















EFFACER PAGE D'ACCUEIL AIDE PRÉFÉRENCES

rechercher sujets titres a-z organisations comment



 Laboratoire et santé (Centre pour la Promotion de la Santé - Congo, 1992, 155 p.)

-   *(introduction...)*
-  Préface
-  Introduction
-  1. Examens du sang
-  2. Examens d'urines
-  3. Examens des selles
-  4. Examen du liquide céphalo-rachidien (LCR)
-  5. Examen des liquides d'épanchement
-  6. Notions de bactériologie
-  7. Notions d'immunologie
-  Conclusion
-  Annexes
-  Références

Laboratoire et santé (Centre pour la Promotion de la Santé - Congo, 1992, 155 p.)

I. Rotsart de Hertaing

J. Courtejoie

Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé

La publication de ce manuel a été rendue possible par une assistance de **Brücke der Bruderhilfe et de Deutscher Caritasverband** que le Centre pour la Promotion de la Santé de Kangu-Mayumbe remercie vivement

Collection dirigée par

J. Courtejoie Directeur du BERPS - Kangu-Mayumbe Expert de l'Organisation Mondiale de la Santé

Techniques Usuelles de Laboratoire

Préface de **Kayembe Nzongola Nkasu**, Professeur de Biologie Clinique

avec la collaboration de **M. Kempe**, Gradué en laboratoire

Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé
B.P. 1800 Kangu-Mayumbe - République du Zaïre

Edité par le

Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé
B.P. 1800 Kangu-Mayumbe, Zaïre grâce au **Ministère de la santé Publique** de la République du Zaïre

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction même partielles réservés pour tous pays

© 1992 I. Rotsart de Hertaing et J. Courtejoie

Dépôt légal n° 249/84 - 2e trimestre Quatrième édition 1992

Imprimé en République du Zaïre

Préface

*Laboratoire et santé sont liés à de nombreux points de vue. Il est cependant nécessaire de dépasser les conceptions importées qui régissent parfois encore nos comportements. En ces temps révolutionnaires, il nous faut radicaliser tous les aspects de la médecine, afin de les placer dans **une perspective authentique.***

*Ce principe nous amène à envisager les activités du laboratoire sous trois angles différents. Le premier est celui qui vise à une précision plus grande du **diagnostic** grâce aux examens de laboratoire. La rigueur des techniques et de leur utilisation doit permettre de mieux reconnaître les maladies et leur évolution; le traitement prescrit peut être plus spécifique, plus simple, et finalement plus économique. Le niveau technique du laboratoire conditionne donc en partie **l'efficacité de la médecine curative.***

*Le second point de vue concerne l'ensemble des activités d'un laboratoire en tant que maillon essentiel de la **connaissance épidémiologique du milieu.***

*Le rapport du laboratoire doit devenir, par sa précision, le point de départ d'une appréciation de l'environnement pathologique. Cette appréciation permet à la fois une **meilleure orientation de la médecine curative et préventive**. Les soins sont plus efficaces, et des activités de prévention peuvent être mieux orientées grâce au laboratoire. L'évaluation d'un programme de santé publique repose parfois en grande partie sur les données fournies par le laboratoire comme c'est le cas dans de nombreuses parasitoses et maladies infectieuses.*

*Enfin, en troisième lieu, le laboratoire peut fournir à l'**éducation sanitaire** de précieux outils de **démonstration**. La participation de personnes sensibilisées à un exercice pratique démonstratif favorise certainement la persuasion et les modifications de comportement favorables à la santé. Il suffit de songer à l'effet que provoque le fait de montrer des larves d'anguillules mobiles sous l'objectif du microscope, pour se convaincre soi-même que le laboratoire peut **participer à la motivation recherchée par l'éducation sanitaire**.*

*Par ces trois aspects complémentaires, les activités du laboratoire s'inscrivent bien dans la perspective d'une authentique **promotion de la santé**. La conjonction d'activités curatives, préventives et éducatives est en effet la meilleure méthode pour favoriser le progrès de la santé de chaque Citoyen.*

Docteur Kayembe Nzongola Nkasu

Professeur de Biologie Clinique
Cliniques Universitaires - Campus de Kinshasa



Au dispensaire, un microscope simple et la lumière du jour permettent la mise en évidence de nombreux parasites. (OMS)

Introduction

Le domaine des analyses de laboratoire et de ses rapports avec la promotion de la santé est vaste. L'objet de cette brochure est de proposer un choix parmi de nombreuses possibilités, choix plus particulièrement destiné aux infirmier(e)s des options hospitalière, accoucheuse et de santé.

Nous avons donc envisagé dans chaque partie de la brochure une présentation assez détaillée des examens de laboratoire "ordinaires", ou de routine, tels qu'ils sont pratiqués dans les laboratoires des "Centres de Santé"(*) ou des hôpitaux de district.

(*) Voir la brochure illustrée n° 24, éditée à Kangu.

D'autre part, en plus petits caractères, sont ensuite expliqués les principes généraux d'analyses plus spécialisées. Ce sont celles qui pourront être exécutées dans des hôpitaux bien équipés, sous la direction d'un médecin. Si les infirmiers ne doivent pas en connaître tous les détails techniques d'exécution, parfois fort complexes, il est cependant souhaitable qu'ils en connaissent l'existence et les principales indications importantes pour la promotion de la santé.

Nous espérons qu'ainsi les infirmiers pourront trouver des notions simples, les aidant à la fois dans leur travail technique, dans leurs contacts avec les centres de référence et dans leurs efforts d'information et d'éducation sanitaires des malades et de leur famille.

1. Examens du sang

A. Examens courants

1. Dosage de l'hémoglobine (Hb)

- *Méthode de Talquist*

C'est la méthode la plus simple, mais aussi la moins précise (elle permet des erreurs de 15 % en plus ou en moins). L'"hémoglobinomètre" est un livret composé de feuillets de papier buvard blanc, et d'une échelle colorée munie de fenêtres rondes au niveau de chaque teinte successive, allant de 10 à 100 % d'hémoglobine.

On pique le doigt de la personne à examiner, et on applique le papier filtre à une grosse goutte de sang, de manière à ce qu'elle soit absorbée lentement, en pénétrant complètement le papier. La comparaison avec l'échelle doit se faire immédiatement après que la tache ait perdu son reflet humide et sous une

bonne lumière. La tache est pressée contre l'échelle et observée à la pleine lumière du jour.

Le pourcentage d'hémoglobine est estimé suivant la couleur de l'échelle qui se rapproche le plus de la couleur de la tache.

Commentaires

La méthode ci-dessus rend des services malgré son imprécision. Elle permet, alliée à l'examen clinique (couleur des muqueuses linguale ou conjonctivale), de reconnaître et de suivre l'évolution d'une anémie. En principe, 100 % correspondent à un taux d'hémoglobine de 14 à 15 grammes %. En-dessous de 70 % (environ 11 grammes %), on parle d'**anémie**; on peut alors effectuer d'autres examens (compléter le diagnostic par une numération des globules rouges* (1) et un hémocrite*, rechercher la cause par une goutte épaisse*, un examen de selles* à la recherche des ankylostomes, etc.) (2).

(1) Les techniques suivies d'une astérisque (*) sont étudiées ou mentionnées dans cette brochure; se reporter à l'index alphabétique.

(2) Voir la brochure illustrée n° 19, éditée à Kangu.

• *Méthode de Sahli à l'hématine acide*

L'hémoglobinomètre de Sahli consiste en un tube gradué monté entre deux étalons de verre coloré, plus une pipette spéciale et un agitateur en verre.

- Placer d'abord quelques gouttes d'acide chlorhydrique décimormal (N/10) (3) dans le tube jusqu'à la marque "20".

(3) Pour obtenir de l'acide chlorhydrique décimormal, on met 8,3 ml d'acide chlorhydrique concentré dans un flacon d'un litre, qu'on remplit ensuite avec de l'eau distillée jusqu'à un litre. Le maniement des acides doit se faire avec grande prudence, car ce sont des produits très dangereux (brûlures!).

- Prélever ensuite 0,020 ml de sang au moyen de la pipette calibrée, essuyer le bout de la pipette avec de l'ouate et souffler le contenu dans l'acide.
- Rincer la pipette en aspirant et refoulant plusieurs fois le liquide de dilution.
- Attendre cinq minutes, pendant lesquelles l'hémoglobine est convertie en hématine acide.
- Ajouter ensuite de l'eau distillée goutte à goutte avec un compte-goutte, en mélangeant bien le contenu du tube avec la baguette en verre.
- On cesse l'addition d'eau au moment où la couleur du contenu du tube est égale à celle des étalons en verre coloré.

- On lit alors la teneur en hémoglobine marquée sur le tube, à hauteur du fond du ménisque (4) de liquide. Une graduation est en grammes %, l'autre en %.

(4) Le liquide, en montant dans le tube, présente une surface concave, appelée "ménisque" (les bords du liquide sont plus élevés que le milieu de la surface).

- Opérer à la lumière du jour.

Commentaires

Cette méthode est plus précise, mais reste encore subjective (l'estimation est personnelle). Au cas où l'on désire un chiffre tout à fait précis pour l'hémoglobine, il faut utiliser des techniques photométriques*.

2. Examen du sang à frais

Cet examen très simple permet de mettre en évidence des microfilaries sanguicoles quand elles se trouvent en abondance. Il suffit de placer une goutte de sang entre lame et lamelle, et d'examiner au microscope*, au faible grossissement (5). Les microfilaries apparaissent comme de petits vers très mobiles, qui serpentent au milieu des globules rouges.

(5) Pour l'usage du microscope, voir l'annexe de cette brochure.



La mise en évidence des parasites de la malaria va permettre un diagnostic précis et la mise en route d'un traitement approprié.

Commentaires

Cet examen ne donne de résultats valables que dans les infestations importantes. Il permet alors d'estimer la gravité de cette infestation, et de prendre les précautions nécessaires pour le traitement à la diéthylcarbamazine (Carbilazine* - Notézine* - Hétrazan*) (6). Avec moins de trois microfaires par champ microscopique, les doses de Carbilazine* seront simplement progressives; entre trois et six microfaires, il faut être prudent, et au-delà de six microfaires, il vaut mieux hospitaliser le malade et associer des corticoïdes au début du traitement par la Carbilazine*, surtout en cas de Loa-loa (7).

(6) Voir les "Notions de Pharmacologie", éditées à Kangu.

(7) L'étude de la morphologie des microfilaries peut se faire par la technique de la goutte épaisse* (voir plus loin).

L'examen du sang à frais devrait être pratiqué chaque année à titre de dépistage en zone d'endémie filarienne, afin de traiter les porteurs et de diminuer ainsi la transmission.

Si cet examen du sang à frais est négatif et qu'on soupçonne une filariose, on peut effectuer une numération des éosinophiles*, une centrifugation de sang veineux ou encore un frottis de sérosité de scarification dermique.



Le simple examen du sang à frais permet la mise en évidence de microfilaries.

3. Vitesse de sédimentation (VS)

En mesurant la vitesse de "chute" des éléments cellulaires dans les liquides du sang (la "sédimentation"), on peut parfois tirer des conclusions sur l'état d'un malade ou la gravité de sa maladie. Dans ce but, on va placer du sang mélangé à un anticoagulant dans un tube spécial en verre de 200 mm, placé verticalement sur un support.

Méthode

- On prépare d'avance une solution de citrate de sodium à 3,8 %, qui est répartie dans des flacons du type "pénicilline" et stérilisée à l'autoclave (les bouchons doivent être maintenus en place dans ce temps par une cordelette, la bague en aluminium n'étant fixée qu'après refroidissement).

- Charger ensuite une seringue stérile de 2 ml avec 0,4 ml de citrate, et prélever chez le malade à jeun 1,6 ml de sang veineux (8).

(8) La ponction veineuse au pli du coude est facilitée par le placement au bras d'un garrot moyennement serré (garrot "veineux"); ainsi, les veines sont aplaties et gonflent à l'avant-bras parce que les artères continuent à y envoyer du sang.

- Introduire le sang citrate dans le tube placé verticalement dans le support, son extrémité pressée hermétiquement contre le bouchon à la base; on injecte pour cela le sang par une voie munie d'un robinet jusqu'à la marque "O".

- Après une heure exactement, lire en millimètre la hauteur atteinte par la limite entre plasma et globules rouges sédimentés.

- Normalement, ceux-ci ne peuvent sédimenter que de 10 à 20 millimètres en une heure.

Micro-méthode (9)

(9) C'est la méthode de Frimberger, utilisant le "microsédimètre" de la marque ERKA. On peut obtenir une documentation aux Etablissements Van Houdt, Osistraat, 7-B-2000 - Antwerpen (Belgique).

Il existe une méthode de mesure de la VS ne nécessitant qu'une très petite quantité de sang, c'est-à-dire trois gouttes de sang capillaire prises au doigt. Cette méthode s'avère donc très utile en pédiatrie, vu les difficultés parfois importantes pour obtenir une quantité suffisante de sang par ponction veineuse. On utilise pour cette méthode une pipette spéciale haute de 100 mm, avec support, un agitateur en verre et la solution anticoagulante de Frimberger (10).

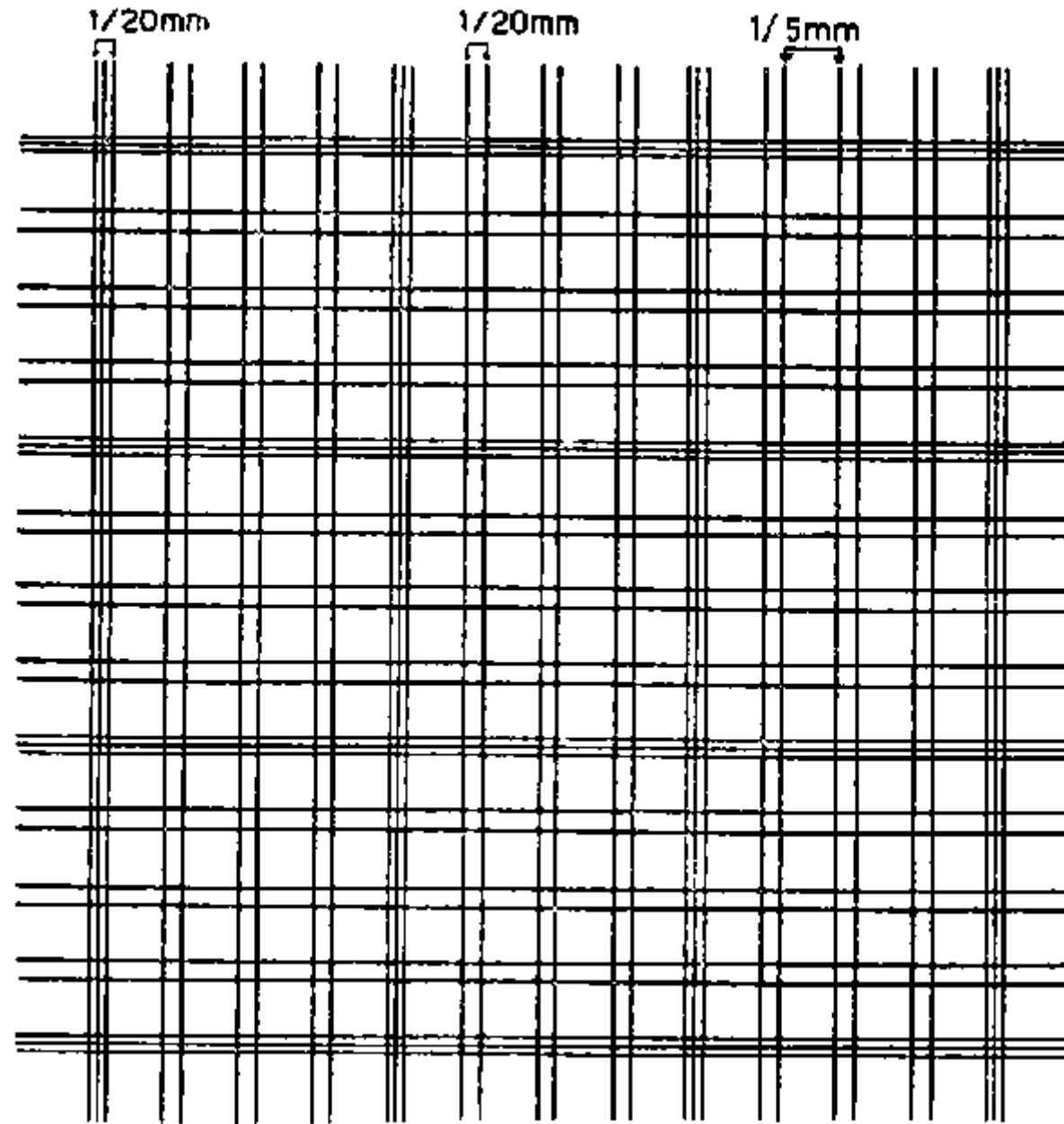
(10) Fabriquée par la firme Bayer; en pratique, on peut obtenir des résultats satisfaisants avec la solution habituelle de citrate sodique.



La goutte épaisse est une méthode de concentration du sang et d'élimination des globules rouges. De nombreux parasites peuvent ainsi être mis en évidence (OMS).



Tout infirmier doit se familiariser, au cours de ses études, avec les techniques de laboratoire les plus simples. (OMS)



Cellule de Bürker

Réseau de la cellule de Bürker. La cellule est divisée en petits carrés de 1/20 mm de côté et en grands carrés de 1/5 mm de côté. Les petits carrés sont utilisés pour la numération des globules rouges et les grands carrés pour la numération des globules blancs.

Commentaires

La VS est une mesure intéressante, mais qui doit être interprétée dans un contexte clinique. Pour être précise, elle doit être faite à jeun (la digestion accélère la VS); les tubes doivent être secs et propres, placés bien verticalement, sinon la mesure est faussée. Parfois, après une heure, la limite entre globules rouges et plasma est imprécise, et on donne alors un chiffre approximatif.

Les résultats seront interprétés en sachant que la VS augmente quand le nombre des globules rouges est diminué ou, surtout, quand les protéines du sang (fibrinogène et globulines alpha) sont augmentées; cette accélération de la sédimentation s'explique par le fait qu'alors les globules rouges sont groupés en agrégats et sédimentent plus facilement. On observera donc une accélération de la VS dans certaines anémies, dans toutes les infections (dont la tuberculose), les cancers, les maladies accompagnées de destructions tissulaires (cirrhose du foie, rhumatisme, cachexie...), mais aussi dans la grossesse. La VS est retardée par contre dans la drépanocytose (11) et dans les hémorragies par diminution du fibrinogène (12).

(11) Voir la brochure illustrée n° 19, déjà citée.

(12) Voir la brochure "Des vies à sauver à la maternité", éditée à Kangu.

4. Numération des globules rouges (GR)

- On prépare la pipette spéciale à bille rouge, une cellule à numération et le liquide de Hayem (13).

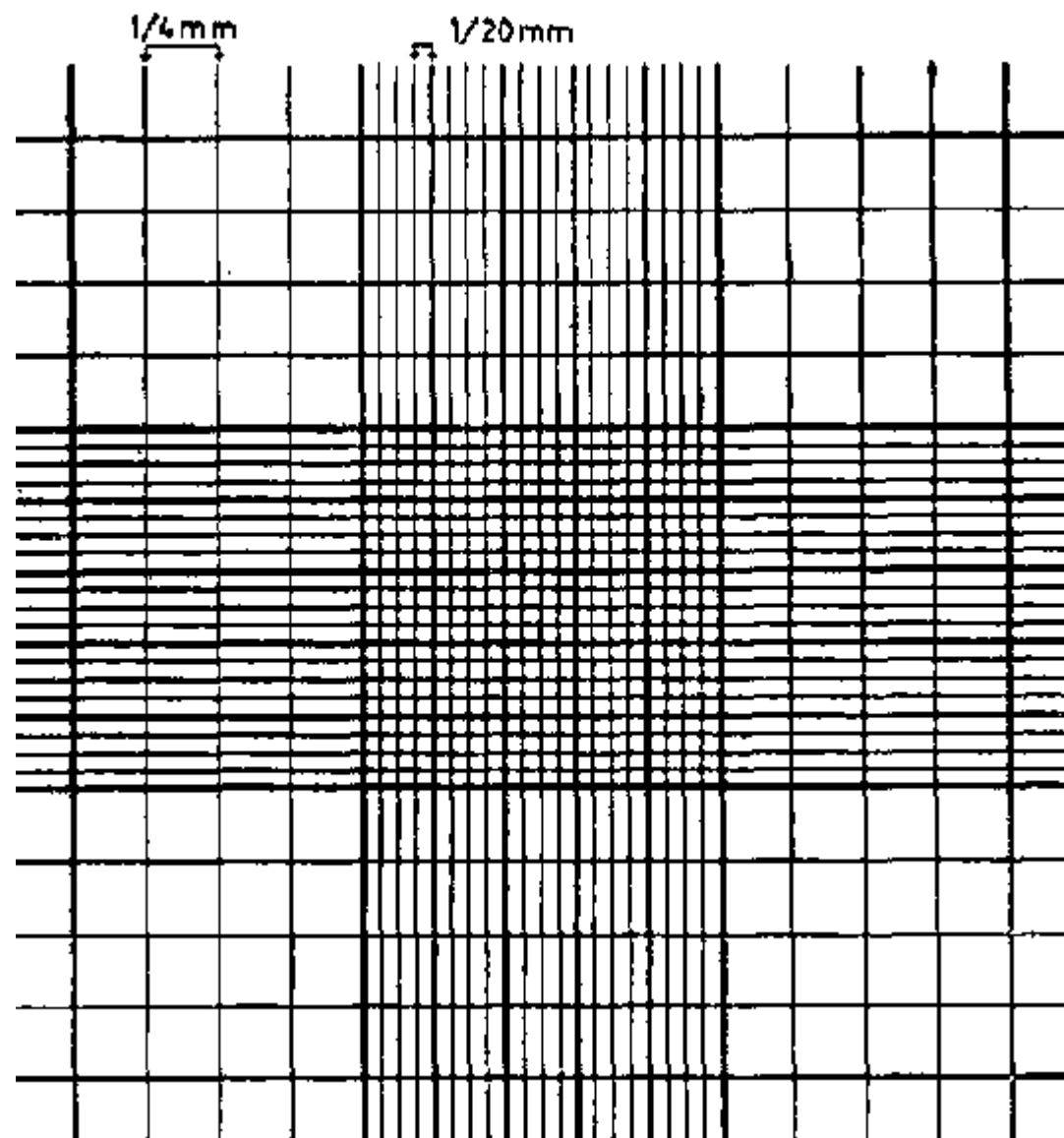
(13) Pour préparer le liquide de Hayem, il faut ajouter 2,5 g de chlorure de mercure, 25 g de sulfate de sodium et 5 g de chlorure de sodium à 1 000 ml d'eau distillée.

- A l'aide de la pipette, on prélève du sang jusqu'au trait marqué 0,5, puis on le dilue en aspirant du liquide de Hayem jusqu'au trait marqué 101 (dilution 1/200).
- On obture alors les deux bouts de la pipette par le pouce et l'index, et on l'agite pendant une à deux minutes.
- On rejette les premières gouttes de ce liquide, puis on remplit doucement la chambre de la cellule à numération recouverte de son couvre-cellule.

- Mettre la préparation sur la platine du microscope (14), et laisser reposer en position horizontale pendant trois minutes.

(14) L'usage du microscope est étudié en annexe.

- Régler la lumière, et examiner de suite au fort grossissement.
- Si on utilise la cellule de Bürker (voir figure), on compte les globules rouges présents dans 40 petits carrés (3 rangées de 13 plus 1), et on multiplie le nombre obtenu par 20 000 pour connaître leur nombre dans un mm^3 de sang.
- Les globules rouges qui chevauchent ou touchent les bords des carrés sont comptés seulement sur les côtés antérieur et latéral gauche. Les valeurs normales vont de 4 000 000 à 5 500 000 de globules rouges par mm^3 .



Cellule de Neubauer

Réseau de la cellule de Neubauer. Elle est divisée en petits carrés de 1/20 mm de côté et en grands carrés de 1/4 mm de côté. Les petits carrés

situés au centre servent à numérer les globules rouges et les grands carrés situés dans les angles sont utilisés pour la numération des globules blancs.

Justification du calcul

Chaque côté du réseau de la cellule de Bürker a 3 mm; les grands carrés mesurent donc 1 mm de côté, les moyens, 1/5 de mm, les petits 1/20 de mm. Sachant que la profondeur de la cellule est de 0,1 mm et que le sang a été dilué 200 fois, on peut ainsi calculer que 40 petits carrés mesurent 1/100 de mm. Pour obtenir le chiffre dans 1 mm³, on multiplie donc le nombre obtenu dans 40 petits carrés par 100 x 200 = par 20 000.

Usage d'autres cellules à numération

Si l'on utilise la cellule de Neubauer, il faut également compter dans 40 petits carrés, situés dans ce cas au centre du réseau, et multiplier ce chiffre par 20 000 si la dilution est de 1/200.

Si l'on utilise la cellule de Thomas, on compte les globules rouges dans 40 petits carrés, et on multiplie ce chiffre par 20 000 si la solution est de 1/200.

Commentaire

La numération des globules rouges est peu utilisée; on lui préfère la détermination de l'hématocrite*. Cette numération est cependant nécessaire à la mise au point du diagnostic d'une anémie (voir plus loin, les valeurs globulaires*).

5. Numération des globules blancs (GB, leucocytose)

- On utilise pour cet examen la pipette à globules blancs (à bille blanche), le liquide de Türk (15) et la cellule de Bürker (voir plus haut).

(15) Pour obtenir ce liquide, mettre dans un flacon d'un litre 20 ml d'acide acétique glacial; ajouter une pointe de couteau de violet de gentiane ou de crystal violet. Compléter à un litre avec de l'eau distillée, et répartir enfin en petits flacons de 20 ml munis d'un bouchon de caoutchouc.

- Aspirer du sang jusqu'au trait 0,5 dans la pipette, puis diluer avec le liquide jusqu'au trait 11 (les globules rouges sont alors hémolysés et les globules blancs légèrement colorés).
- Agiter la pipette en obturant les extrémités par les doigts.
- Comme pour la numération des GR*, rejeter les premières gouttes de la dilution à 1/20, puis remplir doucement la cellule recouverte d'une lamelle.

- Laisser reposer horizontalement trois minutes sur la platine du microscope, puis examiner au faible grossissement.

Avec la cellule de Bürker, on compte tous les GB dans 50 grands carrés (4 rangées de 12 + 2) et on multiplie le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre de GB par mm³.

Les valeurs normales chez l'adulte vont de 3 500 à 9 000 par mm³. Chez le jeune enfant, surtout les six premiers mois, les valeurs normales sont souvent plus élevées.

Si l'on utilise la cellule de Neubauer, on compte 16 grands carrés, et on doit multiplier le nombre obtenu par 200.

Commentaires

La leucocytose est un examen facile et intéressant. Les chiffres devront être interprétés en fonction du contexte clinique. Le nombre des GB est augmenté dans les infections et les inflammations aiguës, dans certaines maladies du sang (hémorragie, anémie, drépanocytose, leucémie, etc.). Devant un chiffre anormal, il est conseillé d'effectuer une formule leucocytaire* (voir plus loin).

6. Numération des éosinophiles

- On utilise la pipette à globules blancs (à bille blanche), le liquide de Dunger (16) et la cellule de Bürker (voir plus haut).

(16) Pour obtenir ce liquide, mettre dans un flacon 0,5 g d'éosine et 5 ml d'acétone, puis ajouter de l'eau distillée jusqu'à obtenir une solution de 50 ml; agiter, filtrer, boucher le flacon et conserver au réfrigérateur.

- On prélève le sang au doigt dans la pipette jusqu'à la marque 1; compléter jusqu'à la marque 11 avec le liquide de Dunger (dilution à 1/10), et agiter doucement pendant trente secondes.
- Rejeter les premières gouttes et déposer un peu de liquide sous le couvre-objet de la cellule de Bürker.



Les numérations de globules blancs demandent une bonne précision technique.

- Endéans les trois minutes, compter les cellules éosinophiles à gros grains rouges dans tout le quadrillage (les autres globules blancs sont encore visibles).
- Multiplier le chiffre obtenu par 10 pour obtenir le nombre d'éosinophiles par mm^3 .

Il y a normalement moins de 300 éosinophiles par mm^3 .

Si l'on utilise la cellule de Neubauer, il faut compter les éosinophiles dans 16 grands carrés et multiplier le chiffre obtenu par 100.

Commentaires

La numération des éosinophiles est une analyse intéressante parce que facile et rapide. Elle est utile pour reconnaître les affections parasitaires (filarioses, vers, migrations larvaires, etc.), les maladies allergiques et certaines maladies hématologiques, ou les éosinophiles sont parfois fort nombreux. Cet examen est cependant moins précis que la formule leucocytaire* (voir plus bas). Les éosinophiles sont abaissés dans les cas de fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes.

7. Numération des plaquettes sanguines (PS)

On utilise une solution d'oxalate d'ammonium, la pipette à globules blancs et la cellule de Bürker.

- Solution d'oxalate d'ammonium

- Dans un flacon de 50 ml, mettre 0,5 g d'oxalate d'ammonium.
- Agiter afin que les cristaux se dissolvent.
- Filtrer.
- Conserver la solution au réfrigérateur.

- Méthode

- Aspirer la solution d'oxalate d'ammonium dans une pipette à globules blancs jusqu'à la graduation 0,5.
- Piquer le doigt et aspirer le sang jusqu'au trait 1.
- Aspirer immédiatement la solution d'oxalate d'ammonium jusqu'au trait 11.
- Agiter pendant 30 secondes.
- Rejeter les premières gouttes.
- Déposer une goutte de la dilution dans la cellule de Bürker (ou de Neubauer).
- Attendre 15 à 30 minutes que la sédimentation soit achevée.

- Compter les plaquettes dans 40 petits carrés (elles apparaissent sous forme de petits corpuscules réfringents de $\pm 1 \mu$).
- Multiplier par 2 000.

- *Valeurs normales*: de 150 000 à 350 000 par mm^3 .

Commentaires

La numération des PS n'est pas un examen difficile. Cet examen peut donner des renseignements très importants dans certaines hémorragies par troubles de la coagulation. On observera par exemple une nette diminution de leur nombre dans les syndromes d'afibrinogénémie par coagulation intravasculaire disséminée. (CID); ceci les différencie des hémorragies par fibrinolyse, où ce chiffre est normal (17).

(17) Voir la brochure "Des vies à sauver à la maternité", éditée à Kangu.

8. Numération des réticulocytes

Les réticulocytes sont des globules rouges fraîchement formés à partir de la moelle osseuse et présentant encore des restes de chromatine, sous forme de granulations, parfois reliées entre elles par de fins filaments.

- *Solution de bleu de crésyl brillant*

- Dans un flacon de 50 ml, mettre 0,5 g de bleu de crésyl brillant.
- Ajuster à 50 ml avec de l'alcool absolu.
- Agiter.
- Filtrer.
- Boucher.

- *Méthode*

- Dégraisser une lame porte-objet à l'éther.
- Tremper une baguette de verre dans la solution de bleu de crésyl.
- Enduire la face supérieure de la lame avec le bleu de crésyl en passant rapidement la baguette à sa surface.

- Laisser sécher.
- Prélever une petite goutte de sang, au doigt, à la face inférieure d'une lamelle couvre-objet.
- La déposer sur la face colorée de la lame.
- Examiner à l'immersion après 10 minutes.
- Compter mille globules rouges et déterminer le pourcentage de réticulocytes (globules rouges jeunes présentant des granulations et des filaments, plus ou moins disposés en réseaux).

- *Valeurs normales*

- Adultes: 2 à 20 ‰
- Enfants et nouveau-nés: 20 à 50 ‰

Commentaires

Les réticulocytes sont augmentés dans les anémies hémolytiques (drépanocytose, carence en G6PD) (18), ainsi que dans les anémies post-hémorragiques ou carencielles (au début de leur traitement).

(18) Voir la brochure illustrée n° 19, éditée à Kangu.

9. Goutte épaisse (GE)

C'est une méthode efficace pour le diagnostic de plusieurs maladies, mais elle prend assez bien de temps et demande une réelle compétence.

On utilise une simple lamelle porte-objet, une aiguille stérile et la solution colorante de Giemsa (19).

(19) La solution est obtenue en diluant 3 gouttes de Giemsa concentré dans 2 ml d'eau neutre (tamponnée).

- La peau est dégraissée à l'éther, qu'on laisse s'évaporer.
- On pique la peau avec une aiguille stérile (danger de transmission de l'hépatite virale ou du sida!), et on dépose sur la partie centrale de la lame une ou deux grosses gouttes de sang.

- On mêle ensuite ces gouttes avec le coin d'une autre lame et on fait un étalement homogène, sous forme d'un cercle d'un centimètre de diamètre environ.
- Grâce à cela, la fibrine du sang est brisée, et le sang peut sécher sans coaguler, en quelques minutes.
- On met une marque d'identification à la face inférieure de la lame, puis on colore dès que possible.
- On recouvre la lame pendant 30 minutes avec le Giemsa dilué.
- On lave ensuite à l'eau sans projeter l'eau directement sur la GE, puis on laisse sécher à l'air.
- L'examen se fait au faible grossissement d'abord, puis au fort grossissement à l'immersion, et porte sur au moins 25 champs microscopiques avant d'être déclaré éventuellement "négatif".
- Il existe une méthode de coloration plus rapide (Field), mais les réactifs doivent être renouvelés chaque semaine.

Commentaires

La GE permet le diagnostic des maladies suivantes:

1) La malaria: on peut observer des trophozoïtes en anneau (20), des schizontes (ou formes de division) et des gamétocytes (ou formes de transmission). Dans ces cas, il est souhaitable d'effectuer un "frottis" sanguin (ou étalement fin), coloré au May-Grünwald-Giemsa (voir ci-dessous, la technique de la formule leucocytaire*), afin d'identifier plus exactement le parasite. Notons que la GE ne sera le plus souvent positive qu'au début d'une poussée de fièvre, avant tout traitement antimalarien.

(20) Voir le cycle du développement des plasmodiums dans la brochure "Malaria", éditée à Kangu.

2) Les filarioses à microfilaires sanguicoles (Loa-loa, Bancroft, Perstans) peuvent être différenciées par leur forme (taille, présence de noyaux ou de gaine, courbes) et leur périodicité (Loa est diurne, Bancroft nocturne et Perstans - non pathogène - diurne et nocturne). Les filarioses à microfilaires **dermiques** peuvent être reconnues sur des frottis de sérosité obtenus par scarifications dermiques (*Onchocerca Volvulus* et *A. Streptocerca*).

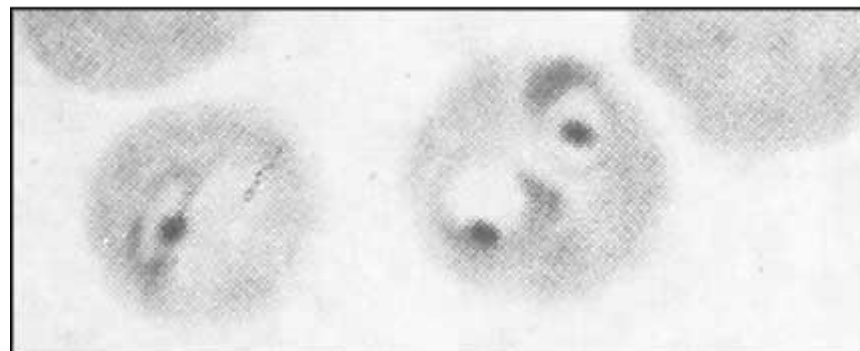
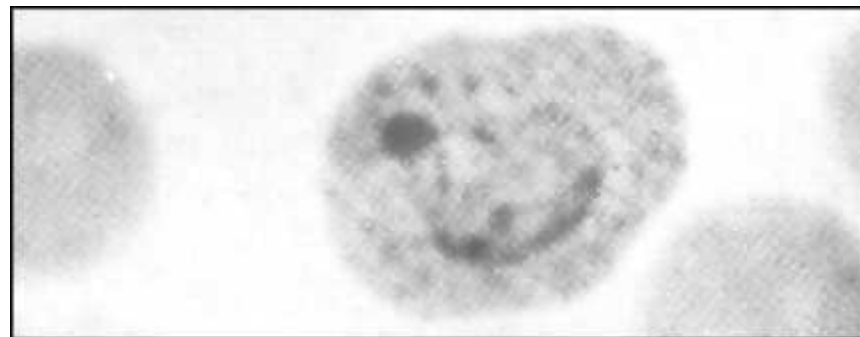
3) Les trypanosomes se reconnaissent facilement grâce à leur forme allongée et à leur membrane ondulante. Mais l'absence de trypanosome dans une GE ne permet pas d'exclure une maladie du sommeil débutante. Il faut compléter l'examen par:

- une ponction ganglionnaire, si l'on trouve des adénopathies;

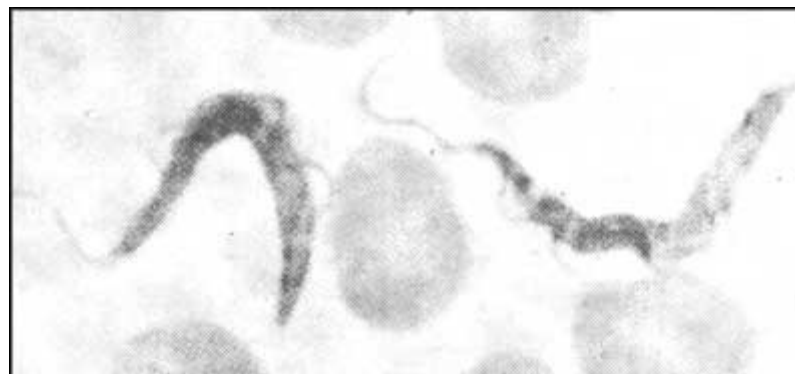
- une ponction lombaire avec examen de liquide céphalo-rachidien* (voir plus loin);
- et surtout une simple prise de sang au doigt (une goutte sur papier filtre) pour effectuer une réaction d'immunofluorescence (21).

(21) Cette réaction permet un diagnostic précoce et certain de la trypanosomiase.

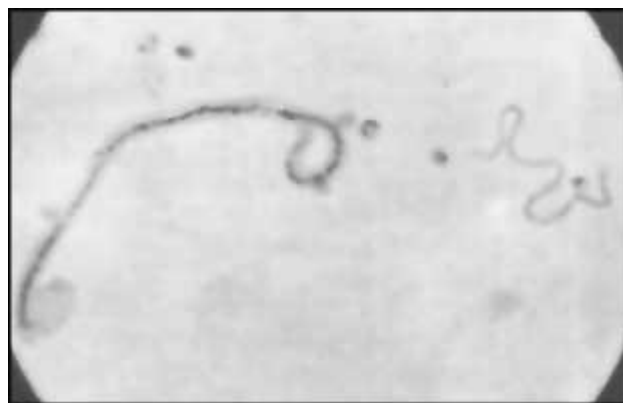
4) **Les Borrelia** sont des spirochètes sanguicoles qui provoquent la fièvre récurrente.



Trophoïtes (parasites jeunes) de la malaria dans les globules rouges.



Trypanosomes dans le sang.

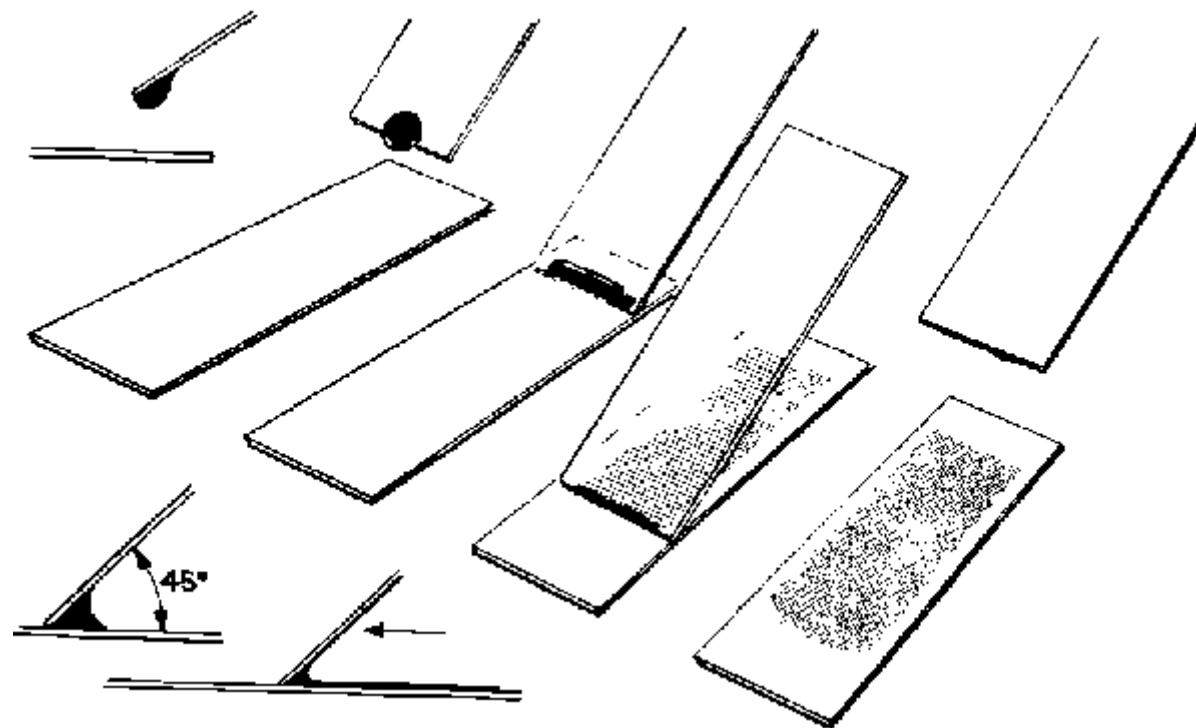


Microfilaires de Loa-loa (à gauche) et de Dipetalonema perstans (à droite) dans une goutte épaisse. La forme des microfilaries ne se voit bien que sur un frottis mince et le traitement reste le même que soit la filariose.

10. Formule leucocytaire (FL)

Il s'agit d'examiner un frottis sanguin sur lame, en étalement mince, et coloré par la méthode de May-Grünwald-Giemsa; on détermine alors la répartition en % des différentes sortes de globules blancs.

Pour obtenir de bons résultats, il faut utiliser une technique rigoureuse. Les lames doivent être très propres, dégraissées dans un mélange à parts égales d'alcool et d'éther, puis essuyées avec un chiffon propre et conservées dans des boîtes bien fermées.



Confection d'un frottis. (Goarnisson)

- On pique un doigt du malade à l'aide d'une aiguille stérile (ou flambée).
- On dépose une goutte bien formée (sans l'étaler) sur la partie droite de la lame, qui est alors déposée sur la table.
- Une autre lame (ou mieux le couvre-objet d'une cellule de Bürker) est alors mise en contact avec la goutte, sous un angle d'environ 45° .
- Puis on déplace cette lame oblique de droite à gauche, toujours sous le même angle.
- La goutte, qui s'était étalée le long de la lame oblique lors du contact, est ainsi étalée en couche mince tout au long de la lame déposée sur la table.
- Après séchage, la lame est identifiée par une étiquette collée du côté de l'étalement et du côté de la partie la plus épaisse de la préparation.

- La préparation est ensuite **colorée** par la **méthode de May-Grünwald-Giemsa**.
- Elle est d'abord fixée pendant 3 minutes par 10 gouttes de May-Grünwald (22).

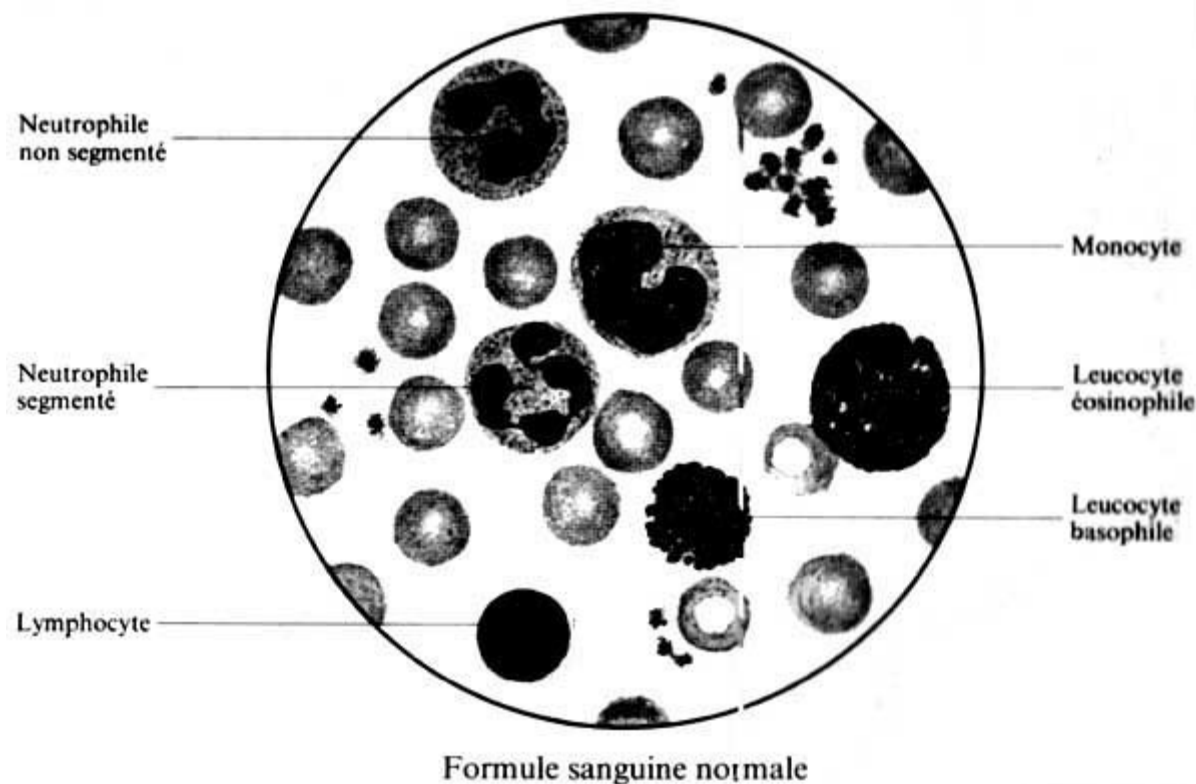
(22) La solution de May-Grünwald est obtenue en ajoutant 200 ml d'alcool méthylique à 0,6 g de poudre d'éosinate de bleu de méthylène; chauffer à 50°, laisser refroidir puis, après 24 heures, filtrer et conserver dans un flacon brun bien bouché.

- Ajouter ensuite 10 gouttes d'eau tamponnée.
- Bien mélanger en inclinant la lame dans tous les sens pendant une minute.
- Rejeter le colorant et verser sur la lame le colorant de Giemsa (dilué comme pour la goutte épaisse* - voir plus haut - à 3 gouttes pour 2 ml d'eau).
- Après 10 minutes, rincer la lame à l'eau courante pour chasser complètement le colorant, puis laisser sécher.

Examiner alors au microscope (immersion, fort grossissement) et compter 100 globules blancs, en notant leur répartition.

La "formule leucocytaire" normale est chez l'adulte:

- GB neutrophiles: de 40 à 75 % (en moyenne 60%)
- GB lymphocytes: de 20 à 50 % (en moyenne 30%)
- GB monocytes: de 2 à 10 % (en moyenne 5%)
- GB éosinophiles: de 1 à 6% (en moyenne 4%)
- GB basophiles: 1 %.



Formule sanguine normale

Comment distinguer les différents globules blancs?

Les neutrophiles sont des cellules arrondies dont le noyau présente plusieurs lobes (polynucléaire); le cytoplasme est bourré de fines granulations violacées.

Les éosinophiles présentent un noyau souvent à deux lobes. Le cytoplasme est bourré de grosses granulations orangées. (Eosine = colorant rouge-orange).

Les basophiles ont un noyau difficilement visible sous un amas de grosses granulations opaques **bleu-violet**.

Les monocytes sont des cellules plus grandes, à grand noyau ovalaire, peu coloré; le protoplasme présente parfois une granulation poussiéreuse rouge.

Les lymphocytes sont plus petits et présentent un noyau arrondi qui occupe presque toute la cellule; le protoplasme en couche mince sur les bords est peu coloré et ne contient pas de granulations.

Notons que cette technique permet également de:

- préciser les résultats obtenus par la goutte épaisse* (voir plus haut);
- étudier les anomalies éventuelles des globules rouges qui sont bien visibles (23);

(23) Pour ces indications, il faut d'abord fixer la préparation à l'alcool méthylique pendant 3 à 10 minutes.

- étudier les cellules jeunes ou anormales qui seraient présentes dans le sang (24);

(24) Le médecin pourra reconnaître les cellules jeunes des lignées rouges et blanches, ou les cellules leucémiques, par exemple.

- étudier les cellules provenant de ponctions de moelle des os ou d'organes divers (25).

(25) Pour ces indications, il faut d'abord fixer la préparation à l'alcool méthylique pendant 3 à 10 minutes.

Si l'eau distillée utilisée lors de la coloration est trop alcaline, les tons bleus sont accentués; si elle est trop acide, le rouge devient excessif. Il faut donc utiliser de l'eau "neutre" ou "tamponnée", comme celle-ci:

- phosphate de potassium: 1 gramme
- phosphate bisodique: 3 grammes
- eau distillée: jusque 1 litre.

Si les autres moyens font défaut, l'ébullition de l'eau chasse le CO₂ et diminue son acidité.

Commentaire

La FL est avantageusement remplacée par la numération des éosinophiles* (voir plus haut) lorsqu'il s'agit uniquement d'établir l'existence d'une probable parasitose.

11. Recherche des hématies falciformes (SC test)

Les globules rouges falciformes de la drépanocytose (sickle cell anémie) (26) peuvent être découverts parfois sur un frottis coloré (voir ci-dessus). Pour

les mettre en évidence de manière sûre, on peut utiliser deux méthodes.

(26) Pour plus de détails sur la drépanocytose, voir la brochure illustrée n° 19, éditée à Kangu.

a) Test d'Emmel (méthode lente)

- Sur une lame porte-objet bien propre, déposer une goutte de solution physiologique de NaCl à 0,9 %.
- Puis prélever une goutte de sang par piqûre au bout du doigt, et mélanger à la goutte de solution.
- Recouvrir d'une lamelle, et la fermer ("fermer") la préparation au moyen de paraffine en fusion déposée sur les bords de la lamelle.

On examine au microscope au grossissement moyen après 12 à 24 heures. L'hémoglobine S étant moins soluble quand la teneur en oxygène diminue, on peut, en cas de drépanocytose, observer les déformations des GR, causées par une cristallisation de cette hémoglobine S.

Si l'hémoglobine est **normale** on n'observe donc aucune déformation des GR.

S'il y a présence d'**hémoglobine S**, on observe:

- 30 à 50 % des GR déformés en faucille ("falciformes") s'il s'agit d'une personne hétérozygote (sickle cell trait, SCT, hémoglobine AS);
- plus de 50 % des GR déformés en faucille, avec apparition de formes filamenteuses, s'il s'agit d'un malade homozygote (sickle cell anémie, SCA, hémoglobine SS).

b) Méthode rapide avec réducteur

Le principe est d'utiliser une solution "réductrice", c'est-à-dire qui va capter l'oxygène disponible, et donc accélérer la cristallisation de l'hémoglobine S.

Solution réductrice au dithionate de sodium ou métabisulfite de sodium

- Dans un petit tube, placer 1 ml d'eau distillée.
- Dissoudre 20 mg de dithionate de sodium (Merck 6507) ou métabisulfite de sodium.
- La solution ne se conserve que quelques heures; il faut donc essayer de grouper les analyses.

Méthode

- Placer une goutte de sang du doigt sur une lame.
- Ajouter une ou deux gouttes de la solution réductrice.
- Mélanger et couvrir d'une lamelle.
- Attendre 30 minutes.
- Examiner avec l'objectif 45, spécialement sur les bords de la préparation.
- La préparation est interprétée comme ci-dessus.

Commentaires

Si le test avec solution réductrice donne des résultats rapides, le diagnostic de certitude entre formes hétéro- et homo-zygotes de la drépanocytose ne peut se faire cependant que par l'électrophorèse de l'hémoglobine* (voir plus loin). Le résultat du test peut servir à motiver les parents de l'enfant malade à poursuivre un traitement prolongé à l'aide de vasodilatateurs (Hydergine*, Pervincamine*).

12. Détermination du groupe sanguin (27)

(27) Pour plus de détails, voir les brochures illustrées n^{os} 13 et 19, éditées à Kangu.

Les sangs humains ne sont pas tous "compatibles" entre eux: il existe des groupes sanguins. Si l'on mélange deux sangs de groupes différents, il se produit une réaction d'"agglutination" des globules rouges (ils se collent en amas), qui est dangereuse pour la circulation. Par contre, le mélange de deux sangs du même groupe ne donne pas de réactions dangereuses: ces sangs sont "compatibles". Il faut donc pouvoir déterminer le groupe sanguin des personnes qui doivent recevoir ou donner du sang, afin d'éviter sûrement toute réaction dangereuse.



Un flacon de sang compatible peut sauver une vie. Ici un donneur de sang bénévole à l'hôpital de Kangu.



Le laboratoire peut fournir à l'éducation sanitaire de précieux outils de démonstration. Ici un écolier voit ses propres larves d'anguillules, mobiles sous l'objectif.

a) Détermination du groupe ABO

Pour cela, il faut disposer des réactifs de groupage "anti-A" et "anti-B". Si l'on ne dispose pas des sérums préparés à l'avance, on peut simplement utiliser le sérum (28) d'une personne connue du groupe B (contenant des anticorps anti-A) et du groupe A (contenant des anticorps anti-B), connues aussi d'avance comme Rhésus négatif (voir ci-dessous).

(28) Le sérum sanguin est obtenu en laissant coaguler le sang dans un tube stérile. Le sérum est le liquide qui baigne le caillot; il doit être conservé au réfrigérateur.

- Pour déterminer le groupe sanguin ABO, on utilise la lame spéciale de plastique blanc à 3 cuvettes, ou, à défaut, une lame propre, divisée en deux parties par un trait de crayon gras.
- Sur le côté gauche, marqué A, on dépose une goutte de sérum anti-A; sur le côté droit, marqué B, une goutte de sérum anti-B.
- On pique alors le doigt de la personne à grouper, et l'on dépose une goutte de son sang de chaque côté.
- On mélange les deux gouttes de chaque côté avec **deux** tiges en verre **différentes** (pour ne pas fausser les réactions).
- On incline légèrement la préparation dans tous les sens, pendant 2 à 3 minutes sur un fond blanc, pour observer l'agglutination éventuelle (à vérifier si l'on veut par un examen à frais au microscope).
- L'agglutination se voit sous forme de petits grumeaux rouges, dans l'un ou les deux côtés, ou pas du tout.
 - Si l'agglutination se produit à gauche (anti-A) et pas à droite (anti-B), il s'agit d'un sang du groupe A.
 - Si agglutination à droite et pas à gauche, c'est un groupe B.
 - Si agglutination des deux côtés, c'est un groupe AB.
 - Si agglutination d'aucun côté, c'est un groupe O.

Notons que cette détermination ABO ne suffit pas pour pouvoir transfuser sans danger; il faut aussi déterminer le groupe "Rhésus" (voir ci-dessous).

b) Détermination du groupe "Rhésus" (Rh)

Cet examen prend une importance toute spéciale chez les personnes du sexe féminin (29), et chez toute personne ayant reçu ou appelée à recevoir une transfusion (30). Il y a en effet, dans la population générale, environ 85 % des personnes qui ont dans leur sang un facteur, appelé "Rhésus" pour des raisons historiques: ces personnes sont **Rhésus "positif"**. Par contre, 15 % de la population n'ont pas ce facteur dans leur sang, et ils sont appelés **Rhésus "négatif"**.

(29) Voir le livre "Maternité et Santé", édité à Kangu.

(30) Voir les brochures illustrées n^{os} 13 et 19, éditées à Kangu.

Le danger consiste en ce qu'une personne Rhésus négatif peut, après contact avec du sang Rhésus positif, fabriquer des anticorps contre ce dernier sang, et donc subir des réactions transfusionnelles graves. De plus, certaines femmes Rhésus négatif, enceintes d'un enfant Rhésus positif, peuvent développer des anticorps qui vont abîmer le sang de l'enfant et le rendre malade.

La détermination du groupe Rhésus se fait de la même façon que pour le groupe ABO: une goutte est mise en contact avec une goutte de sérum anti-Rhésus (souvent appelé "anti-D") sur une lame porte-objet. Bien mélanger et balancer la lame sur un "Rhéscope" (boîte chauffante contenant une lampe électrique et recouverte d'un verre dépoli). S'il y a agglutination, le sang est Rhésus positif, et inversement.

N.B.: En Afrique, seulement 2 à 5 % des habitants sont Rhésus négatif.

13. Epreuve de compatibilité directe

Avant toute transfusion de sang, il faut établir avec certitude que les sangs du receveur et du donneur sont parfaitement compatibles (31). On utilise pour cette épreuve deux lames porte-objet, un support clair (par exemple une "boîte lumineuse"), une pipette compte-gouttes, deux baguettes en verre, du sérum du receveur, du sang citrate du donneur, du sang du receveur et de la solution "physiologique" (NaCl à 0,9%).

(31) Voir également la brochure illustrée n° 13, éditée à Kangu.

a) Réaction entre sang du donneur et sérum du receveur (32).

(32) La réaction la plus importante se passe entre les globules rouges du donneur et le sérum du receveur.

- Sur une lame très propre, placer deux gouttes de sang citrate du donneur, puis une goutte de sérum du receveur.
- Mélanger avec une baguette de verre très propre sur les deux tiers de la surface de la lame.

- Balancer lentement la lame et observer une agglutination éventuelle pendant 3 minutes.
- Ajouter alors une goutte de solution physiologique (33), mélanger et observer à nouveau.

(33) La solution "physiologique" va dissocier les fausses agglutinations, telle que la formation de rouleaux, qui ne résultent pas de la présence d'anticorps incompatibles.

b) Réaction entre les sangs du donneur et du receveur

On répète la même épreuve sur une seconde lame avec une goutte de sang citrate du donneur et deux gouttes de sang du receveur, mélangés avec une autre baguette de verre.

Commentaires

Une agglutination peut résulter d'une différence de groupe ABO entre donneur et receveur, ou encore de la présence chez le receveur d'anticorps anti-Rhésus, plus rarement d'"auto-anticorps" agglutinant les GR de n'importe quelle personne. S'il y a la moindre agglutination, on ne peut pas effectuer la transfusion, sous peine de provoquer de dangereuses réactions (fièvre, hémolyse, ictère, blocage rénal, etc.). Il faut éventuellement refaire la détermination des groupes sanguins et (ou) appeler le médecin.

14. Tests simples d'étude de la coagulation sanguine

Outre la numération des plaquettes sanguines* (voir plus haut), on peut étudier certains aspects de la coagulation du sang par des examens simples.

a) Temps de saignement

C'est le temps qui s'écoule entre une piqûre et l'arrêt de l'écoulement du sang. On pique donc assez profondément le lobule de l'oreille pour que le sang coule goutte à goutte. On recueille une goutte toutes les trente secondes avec un buvard, jusqu'à l'arrêt du saignement. On compte donc les gouttes sur le buvard, et on divise par deux pour obtenir le temps en minutes. La valeur normale se situe entre 3 et 4 minutes.

b) Temps de coagulation

Le temps que prend le sang pour coaguler peut être mesuré sur une lame de verre. On recueille une grosse goutte de sang sur une lame bien propre, mise à plat sur une table. Toutes les trente secondes, on incline légèrement la lame pour voir si la goutte se déforme. Quand elle ne se déforme plus, la coagulation est faite. Le temps normal de coagulation est de 7 à 12 minutes. On peut également traîner une aiguille à travers la goutte toutes les trente secondes; la coagulation est bien commencée quand des fibres collent sur l'aiguille.

c) Temps de rétraction du caillot

On place 5 ml de sang veineux dans un tube et on le met en incubation à 37° C, par exemple au bain-marie dans l'eau tiède. On note le degré de rétraction du caillot chaque heure. Normalement, le caillot commence à se rétracter et à se détacher de la paroi du tube dans les trente minutes; cette rétraction est nette après une heure, laissant le sérum exprimé du caillot dans le tube. Après quatre heures, la rétraction est complète ou presque.

Commentaires

- Le temps de saignement peut être allongé quand la prothrombine est diminuée ou qu'il y a carence en vitamine K; le temps de saignement dépend également de la rétraction des capillaires et du nombre des plaquettes sanguines.
- Le temps de coagulation dépend de très nombreux facteurs différents.
- Le temps de rétraction du caillot dépend directement du nombre et de la qualité des plaquettes sanguines (34).

(34) Voir aussi la brochure "Des vies à sauver à la maternité", déjà citée.

Ces examens simples permettent de mieux comprendre les troubles de la coagulation sanguine causes d'hémorragies (épistaxis, hématomèse, méloena, hémoptysie, hématurie, etc.). Le traitement de la cause première en sera plus efficace.

Ils prennent une grande importance dans l'examen préopératoire d'un malade. On ne peut en effet opérer sans danger une personne dont la coagulation sanguine ("hémostase") ne serait pas suffisante.

B. Examens plus spécialisés

1. En hématologie

- **Le dosage de l'hémoglobine** peut se faire de manière beaucoup plus précise par la méthode photométrique* (35). On transforme l'hémoglobine en une forme colorée par la solution de Drabkin, et le dosage se fait sur un photomètre étalonné.

(35) La photométrie est la méthode de mesure de la lumière passant à travers une solution à analyser, et comparée, en % à la lumière passant à travers de l'eau.

- L'étude des anémies et des globules rouges peut être complétée par l'**hématocrite***. Le sang rendu incoagulable est centrifugé pendant 30 minutes. On lit alors la hauteur de la colonne des GR, tassés au fond du tube, et on l'exprime en % par rapport à la hauteur totale du sang centrifugé. Cette valeur est

normalement 45 % environ, chez l'adulte. Elle permet, avec le taux d'hémoglobine et le nombre des GR, de calculer les "**valeurs globulaires**". Par exemple, on obtient **la concentration en Hb des GR** (CHGR) en divisant le taux d'hémoglobine (15 %) par l'hématocrite (45 %); la CHGR est donc normalement de 33 %. **L'index de coloration des GR** (IC) se calcule en divisant le taux d'Hb en % (100 %) par le nombre de millions de GR par mm x 20 (5 x 20); l'IC est donc normalement de 100/100 = 1. S'il est inférieur à ce chiffre, on parle d'anémie "hypochrome"; s'il est supérieur, il y a anémie "hyperchrome".

- Le diagnostic précis des hémoglobines anormales, comme l'Hb S de la drépanocytose, peut être établi par **l'électrophorèse de l'hémoglobine***. Le principe de cet examen consiste à mettre en évidence la différence de vitesse de migration des Hb S et A (normale) sur une bande de papier soumise à un champ électrique.
- L'étude de la coagulation peut être complétée par de nombreux autres examens, dont le plus simple est l'estimation quantitative du **fibrinogène** (36).

(36) Voir le test Fibrindex* dans la brochure "Des vies à sauver à la maternité", déjà citée.

2. En biochimie

A l'hôpital, de nombreuses analyses, nécessitant le plus souvent l'usage d'un photomètre (37), permettent de déterminer les taux des différents constituants du sang en rapport avec le fonctionnement des différents organes du corps.

(37) Voir plus haut le principe de la photométrie. Parfois, des tests simplifiés nécessitent seulement une goutte de sang prélevé "au doigt" et permettent une estimation sans photomètre. Si ces tests sont faciles et rapides, ils ont cependant comme inconvénients d'être coûteux, assez peu précis et peu résistants à la l'humidité et la chaleur.

Les principales analyses sont:

- Détermination de la **glycémie** (glucose sanguin) (au doigt: Dextrostix*); les chiffres sont pathologiques dans les cas de diabète ou d'hypoglycémie.
- Détermination de **l'urée** (déchet du métabolisme azoté) (au doigt: Azostix*); les chiffres peuvent être pathologiques dans l'insuffisance rénale ou les obstacles urologiques.
- Détermination des **protéines totales**; elles sont abaissées dans les malnutritions protéiques.
- Les "**tests hépatiques**" (transaminases SGOT et SGPT, bilirubine directe et totale, tests au thymol, Takata et BSP, etc.) permettent de connaître assez bien le fonctionnement du foie et l'influence de certaines maladies.

- L'"ionogramme" comprend la détermination des différents constituants ionisés du sang, comme le sodium (Na), le potassium (K), le chlore (Cl) et la "réserve alcaline" (HCO_3); les chiffres obtenus permettent de mieux orienter le traitement des déshydratations des gastro-entérites si dangereuses chez les enfants.

2. Examens d'urines

1. Examen macroscopique des urines

a) Prélèvement des urines

Les flacons à large goulot utilisés pour récolter les urines doivent être très propres. Il faut après chaque usage les laver avec un détergent puis bien les rincer à l'eau, pour éviter que les urines récoltées dans des flacons souillés ne soient contaminées par la prolifération de microbes ou de levures, car cela fausse les résultats.

Chez l'homme, les urines à analyser peuvent être recueillies par miction normale. Chez la femme, on peut procéder de la même façon, sauf pour certains examens (recherche de protéines, recherche de glucose et examen microscopique) pour lesquels il est nécessaire de prélever les urines par sondage. Dans ce cas, les urines peuvent en effet, lorsqu'elles sont émises spontanément, être contaminées par des sécrétions vaginales qui fausseront alors les résultats.

Si l'on ne peut examiner aussitôt les urines, ce qui est la meilleure méthode, il faut favoriser leur conservation en ajoutant un produit préservatif (un petit cristal de thymol, ou 3 gouttes de formol pour 30 ml (38), ou encore 2 ml de toluol) ou en les plaçant en réfrigérateur.

(38) Le formol peut donner un test de Fehling* (voir plus loin) faussement positif.

b) Limpidité des urines

1. **Normalement**, les urines sont **limpides**, c'est-à-dire transparentes, à l'émission.

2. Parfois, elles peuvent être **troubles sans être pathologiques**:

- un trouble léger peut être observé **chez la femme normale** (présence de mucus, cellules épithéliales et globules blancs);
- présence **d'urates** dans des urines acides (précipité granuleux, rosé, quand les urines refroidissent), qui disparaissent par **chauffage** des urines;
- présence de **phosphates ou de carbonates** dans des urines alcalines, qui disparaissent en ajoutant 5 gouttes d'**acide acétique** dilué à 10%.

3. Si le trouble ne disparaît pas par chauffage et adjonction d'acide acétique, les urines sont pathologiques. Il peut s'agir de protéines provenant:

- d'urines alcalines, troubles de l'émission, et contenant **des microbes** et **des globules blancs**;
- d'urines contenant du **pus** (nombreux globules blancs dans des sécrétions visqueuses, s'accumulant au fond du récipient).

c) Couleur des urines

L'urine normale est de couleur jaune-clair. Après restriction des boissons, elle devient normalement plus foncée.

Les causes **pathologiques** les plus fréquentes de modification de la couleur des urines sont:

1. la présence de **pigments biliaires*** (bilirubine* directe ou conjuguée): les urines vont du jaune foncé au brun verdâtre (voir la technique de recherche plus loin);
2. la présence d'**urobiline***: les urines en contiennent toujours une petite quantité: (voir la technique de recherche plus loin).
3. la présence de **porphyrines**: les urines prennent la couleur du vin de Porto.
4. la présence de **sang ou d'hémoglobine***: les urines sont de couleur rosée pâle à brun foncé (voir la technique de recherche plus loin: examen microscopique et Occultest*);
5. la présence de **pigments d'origine médicamenteuse**:
 - urines rouges: pyramidon, pyridium, phénacétine, PSP;
 - urines jaunes à vertes: vitamine B₂;
6. d'autres causes plus rares (porphyrines, mélanine, etc.).

d) Débit des urines

Dans certaines maladies ou pour certains tests, il faut mesurer chaque matin la quantité d'urines émises en 24 heures, en les récoltant dans un grand récipient.

e) Densité des urines

La densité, ou poids spécifique, est le poids de l'unité de volume d'urine comparé à celui de l'eau considéré comme valant 1. Pour la mesurer on remplit un cylindre de 100 ml aux 3/4 avec de l'urine; on y plonge l'**aéromètre**, sans qu'il soit en contact avec la paroi, et on Ut le chiffre au niveau de la surface du liquide, jusqu'à 3 chiffres après la virgule.

Exemple: 1,020 (on dit souvent: 1 020).

On mesure aussi la température de l'urine au moyen d'un thermomètre.

Il faut enfin corriger le chiffre:

- en fonction de la température (ajouter 1 par 3 degrés au-dessus de 15° C; exemple: si la température est de 24°, on doit ajouter. $9 : 3 = 3$ au chiffre de 1 020, qui devient donc 1 023).
- en fonction de la présence de:
 - protéines (retrancher 1 par 4 grammes pour mille de protéines après dosage);
 - glucose (retrancher 1 par 3 grammes pour mille de glucose après dosage).

Si le volume d'urine est insuffisant, on ajoute la même quantité d'eau, et on multiplie alors la partie décimale du chiffre obtenu par deux (exemple: 1 010 devient 1 020).

2. Recherche de protéines ("albumine")

a) Test à l'ébullition en présence d'acide acétique

- Si les urines sont troubles, il faut les filtrer ou les centrifuger au préalable.
- On remplit ensuite un tube à essai en pyrex aux 3/4 avec de l'urine, et on chauffe la partie supérieure du tube dans la flamme jusqu'à **ébullition**.
- Si un trouble apparaît alors, cela peut être dû à la présence de phosphates, de carbonates ou de protéines (voir plus haut).
- On ajoute alors 3 à 5 gouttes d'acide acétique à 10 % (en volume).
- Si le trouble persiste, apparaît ou s'accroît, il s'agit de protéines.

- Si le trouble disparaît, ce n'était pas des protéines.
- On note l'intensité du trouble, en l'estimant de 0 (aucun trouble) à ⁺⁺⁺⁺ (précipité très dense).
- On note ⁺⁺ quand il y a trouble mais sans formation de flocons, et ⁺⁺⁺ quand il y a formation de flocons.
- Seules les urines très positives peuvent être soumises au dosage quantitatif des protéines (Esbach*) (voir ci-dessous).

b) Test à l'acide nitrique

- Dans un verre à pied conique, on verse de l'urine jusqu'au tiers de la hauteur.
- On ajoute avec un entonnoir quelques millilitres d'acide nitrique (= acide azotique).
- Celui-ci, étant plus lourd, descend au fond.
- On examine à la lumière la limite de séparation entre acide et urine.
- S'il y a à ce niveau un anneau blanc, l'urine contient des protéines.

c) Test à l'Albustix* (39)

(39) Tigette réactive de la firme Ames.

- Cette méthode simple et rapide consiste à plonger l'extrémité sensible de la tigette en papier réactif dans l'urine.
- On la retire immédiatement et on compare alors la couleur de l'extrémité à l'échelle des couleurs collée sur le flacon d'emballage.
- En cas de présence de protéines, l'extrémité imprégnée vire au vert ou au bleu-vert.

d) Dosage des protéines (Esbach)

- On utilise pour cette recherche quantitative le **tube** d'Esbach et le **réactif** du même nom (acide picrique 10 g, acide citrique 20 g, eau distillée jusque 1 000 ml).
- Dans le tube, on met de l'urine filtrée jusqu'à la marque U.
- On ajoute ensuite le réactif jusqu'à la marque R.

- On bouche le tube avec un bouchon de caoutchouc.
- On retourne le tube dix fois sans agiter.
- On laisse reposer et on lit la hauteur en gramme pour 1 000 unités par litre après 24 heures.
- Si dès l'addition du réactif, il se forme un trouble très intense, il vaut mieux diluer l'urine deux fois (ajouter un même volume d'eau) et multiplier le résultat par deux.

Commentaires

La présence de protéines peut relever de nombreuses causes différentes (infections urinaires, maladies ou souffrance rénales, etc.). Elle nécessite qu'on fasse un examen microscopique des urines pour préciser le diagnostic (voir plus loin). Ces deux résultats seront alors présentés au médecin pour le traitement.

Cette recherche de protéines revêt une importance particulière chez les femmes enceintes de la consultation prénatale (40), étant donné la fréquence et la gravité des infections urinaires ou de la possibilité de prééclampsie.

(40) Voir la brochure illustrée n° 18, ainsi que le livre "Maternité et Santé" - Notions d'obstétrique, édités à Kangu.

3. Recherche de glucose ("sucre")

a) Recherche qualitative

Réaction de Fehling

Le réactif se compose de deux parties: le Fehling A (41) et le Fehling B (42). Leur mélange ne se conservant pas longtemps, il faut y procéder (1 volume A + 1 volume B) au moment de l'analyse, selon les besoins.

(41) Le Fehling A se conserve dans un flacon de verre bouché à l'émeri. Il est préparé en dissolvant à chaud 36,4 g de sulfate de cuivre dans 400 ml d'eau distillée; après refroidissement, on porte la solution à 500 ml avec de l'eau distillée.

(42) Le Fehling B se conserve dans un flacon en plastique. Il est préparé en dissolvant à froid 173 g de tartrate sodicotassique (sel de Seignette) et 50 g de soude caustique dans 400 ml d'eau distillée; après refroidissement on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 500 ml.

- Dans un tube à essai, mettre 3 ml de solution A + B.
- Chauffer à l'ébullition.
- Dans un second tube à essai, mettre 3 ml d'urine.
- Y ajouter les 3 ml de Fehling chaud.
- Noter le résultat en fonction de la couleur obtenue
 - pas de changement = 0;
 - couleur verte = traces;
 - couleur brune = + à ++;
 - couleur jaune orange = ++ à +++.

Test au Clinistix* (43)

(43) Tigette réactive de la firme Ames. Ce test est associé à l'Albustix* (voir plus haut) dans l'Uristix*. La conservation des réactifs "tout prêts" en tigette ou en comprimés, comme ceux de la firme Ames, est améliorée en refermant immédiatement le flacon après prélèvement du réactif nécessaire; ce flacon peut ensuite être emballé avec un dessiccateur (comme le silicagel) dans du papier d'aluminium, et enfin placé dans endroit frais (si possible le réfrigérateur).

Tremper l'extrémité réactive de la tigette dans l'urine et la retirer aussitôt. Au bout d'une minute exactement, examiner les deux faces de la tigette pour voir s'il existe une coloration bleue, signe de présence de glucose.

b) Recherche quantitative

Dosage du glucose (Fehling quantitatif)

En cas de diabète, on dose le glucose sur les urines de 24 heures.

- Dans un flacon de 100 ml, sur une toile d'amiante, au-dessus d'une flamme, on place 10 ml de Fehling A + B mesurés exactement à la pipette (voir plus haut), puis 5 ml de ferrocyanure de potassium à 5%, et enfin 5 ml d'eau distillée.
- On fait bouillir doucement.
- Avec une pipette de 10 ml graduée en 0,1 ml, on laisse tomber de l'urine goutte à goutte dans le flacon, tout en maintenant l'ébullition.

- On note le volume d'urine nécessaire pour que la solution passe du bleu au brun.
- Des tables permettent de déduire la concentration de l'urine en glucose (exemple: 1,5 ml d'urine = 27,3 g pour mille de glucose dans l'urine).

Réactions semi-quantitatives

Certains tests rapides (Clinitest*, Tes-Tape*) permettent d'estimer approximativement la quantité de glucose dans les urines.

Voici comment procéder avec le Clinitest* (44)

- Dans un tube à essai (44), verser 5 gouttes d'urine en tenant le compte-gouttes (44) bien verticalement.

(44) Réactif et matériel de la firme Ames.

- Rincer le compte-gouttes, puis verser 10 gouttes d'eau dans le tube.
- Laisser tomber un comprimé de Clinitest*; une ébullition se produit.
- 15 secondes après la fin de celle-ci, remuer doucement le tube, et comparer immédiatement avec l'échelle des couleurs de l'emballage.
- Si la couleur reste bleue, il n'y a probablement pas de sucre, ou moins de 1,50 g par litre.
- Les couleurs allant du vert au brun, puis à l'orange permettent d'estimer les taux de glucose compris entre 2,50 et 20 grammes par litre.
- Si une couleur orange vif apparaît, même pour un court instant durant l'ébullition, il y a plus de 20 grammes par litre (2 %) de glucose dans l'urine.

Commentaires

La recherche du glucose dans les urines sera faite spécialement dans les cas où le malade présente des signes évocateurs de diabète (soif, polyurie surtout nocturne, déshydratation, obésité ou amaigrissement, etc) et dans les infections uro-génitales. L'équilibration du diabète est souvent difficile; le traitement relève du médecin. En cas de présence de glucose, il faut rechercher également l'acétone (ci-dessous).

4. Recherche d'acétone

a) Test de légal

- On prépare au moment de l'emploi une solution de nitroprussiate de potassium (en dissoudre 2 g dans 10 ml d'eau, puis ajouter goutte à goutte 0,4 ml d'acide sulfurique concentré, et ajuster avec de l'eau distillée jusqu'au volume de 20 ml).
- Cette solution, placée dans une bouteille brune à compte-gouttes, ne se conserve pas longtemps.
- A 6 ml d'urine fraîche, ajouter 10 gouttes de solution de nitroprussiate et mélanger.
- Aspirer ensuite avec prudence 1 ml d'ammoniaque concentré dans une longue pipette.
- Le laisser couler lentement sur la paroi du tube incliné, la pointe de la pipette à un centimètre environ de la surface de l'urine. L'ammoniaque, plus léger, surnage.
- On redresse doucement le tube, et on le laisse reposer sur une étagère pendant 5 minutes.
- En présence d'acétone, il apparaît un anneau violet ⁺, ⁺⁺ ou ⁺⁺⁺; un anneau brun ou trouble n'a pas de signification.

b) Réaction à l'Acetest* (45)

(45) De la firme Ames.

Les corps cétoniques, dont l'acétone, peuvent être décelés par des tests rapides (Acetest*, Ketostix*).

- Placer par exemple un comprimé d'Acetest* sur un papier blanc.
- Verser une goutte d'urine sur le comprimé.
- Lire le résultat au bout de 30 secondes, et comparer avec l'échelle de couleur (apparition d'une coloration lavande ou mauve foncé en cas de présence de corps cétoniques).

Le **Ketostix*** se présente sous forme d'une tige à tremper un court instant dans l'urine; on lit le résultat après 15 secondes, comme ci-dessus. Ces deux tests peuvent servir à déceler les corps cétoniques dans le sang (46), le sérum (47), le plasma (47) ou le lait (48).

(46) Pour l'Acetest* seulement: placer une goutte de sang sur le comprimé; attendre dix minutes; puis enlever le petit caillot et lire la coloration du comprimé.

(47) Avec l'Acetest*, lire le résultat après deux minutes.

(48) Avec le Ketostix* seulement

Commentaires

La présence de corps cétoniques est un signe de gravité: elle signe le déséquilibre du milieu intérieur dans les cas graves de diabète, de gastro-entérites ou de vomissements; elle indique, surtout chez les enfants, la nécessité d'un traitement médical énergique par voie parentérale (49).

(49) Voir le livre "L'enfant et la santé - notions de pédiatrie", édité à Kangu.

5. Recherche de pigments biliaires (bilirubine directe)

Après avoir été conjuguée dans le foie, la bilirubine est appelée "directe" ou "post-hépatique", et elle peut être éliminée par les reins. Elle donne aux urines dans certaines maladies une coloration allant du jaune-brun au vert foncé.

a) Méthode à l'anneau de lugol

- Préparer la solution de lugol pour la recherche de bilirubine (iode pulvérisé 1 g, iodure de potassium 2 g, eau distillée jusque 200 ml), à conserver dans un flacon à bouchon en verre.
- Placer 5 ml d'urine dans un tube à essai.
- Aspirer 1 ml de solution iodée dans une longue pipette.
- Comme dans le test de Légal (voir plus haut), laisser couler doucement 0,5 à 1 ml de solution à la surface de l'urine dans le tube légèrement incliné.
- Redresser le tube et le placer sur une étagère pendant 5 minutes.
- Observer ensuite sur un fond blanc clair la présence d'un composé vert à la limite de séparation urine-lugol, et en noter l'intensité (bilirubine: 0, +, ++ ou +++).

b) Méthode a l'Ictotest* (50)

(50) Réactif de la firme Ames.

Ce test rapide permet une bonne appréciation de la présence de bilirubine dans l'urine.

- On place 5 gouttes d'urine sur un carré de papier spécial (fourni avec les comprimés).
- On dépose ensuite un comprimé d'Ictotest* au centre de la surface mouillée.
- Puis on verse deux gouttes d'eau sur le comprimé.
- S'il y a de la bilirubine, endéans les 30 secondes, le papier autour du comprimé se colore en mauve tirant sur le bleu, d'autant plus vite et plus fort qu'il y a plus de pigments biliaries.
- Une légère coloration rosé ou rouge apparaît parfois: c'est un résultat négatif.

Il existe également une tigelette réactive (**Ictostix***) qu'il suffit de tremper un instant dans l'urine, pour comparer, après 20 secondes, sa couleur avec l'échelle de l'emballage.

Commentaires

Avec la recherche de l'urobiline* (voir plus loin), la recherche de bilirubine permet un diagnostic plus complet de nombreuses maladies du foie.

6. Recherche d'urobiline

L'urobiline est une substance normale produite par le foie et éliminée par les urines. Elle s'y trouve d'abord sous forme incolore (urobilinogène), qui, au contact de l'air, donne de l'urobiline a couleur de vin de Porto. Des urines fraîches qui sont claires peuvent donc, conservées à l'air, foncer en vieillissant.

a) Réaction de Schlesinger

Cette méthode n'est applicable qu'aux urines qui donnent un test au lugol* négatif (voir plus haut).

- On utilise la solution de lugol* (voir plus haut) et une solution d'acétate de zinc (51).

(51) Pour obtenir cette solution, peser 10 g d'acétate de zinc, les placer dans un flacon en verre blanc et y ajouter 100 ml d'alcool éthylique à 94° dénaturé à l'éther; le réactif doit être agité avant l'usage.

- A 5 ml d'urine, ajouter 1 à 2 gouttes de lugol (pour transformer l'urobilinogène en urobiline).
- Puis ajouter 5 ml de solution d'acétate de zinc.
- Mélanger et filtrer.
- Observer le liquide filtré dans la lumière d'une lampe: en cas d'urobilinurie, il apparaît une fluorescence verte (notée 0, +, ++, ou +++).

b) Méthode à l'Urobilistix* (52)

(52) Réactif de la firme Ames.

Cette méthode rapide permet de déceler l'urobilinogène dans les urines fraîches (moins d'une heure après l'émission).

- Plonger la tigette réactive un instant dans l'urine.
- Eliminer l'excès d'urine en frappant la tigette sur le bord du récipient.
- Compter exactement 60 secondes depuis le contact avec l'urine.
- Puis comparer immédiatement la couleur avec l'échelle de l'emballage.

Commentaires

Les recherches de bilirubine et d'urobiline dans les urines permettent de mieux reconnaître et suivre l'évolution de nombreuses maladies en rapport avec le foie.

Le tableau ci-dessous montre les résultats habituels de la recherche d'urobilinogène et de la bilirubine urinaires dans les affections suivantes:

		1	2	3
	 sujet normal	Affections hémolytiques	Affections hépatiques	Obstructions biliaires

Urobilinogène urinaire	normal	élevé	élevé	bas
Bilirubine urinaire	négatif	négatif	positif	positif

D'après ce tableau, il découle que les valeurs des examens urobilinogène et bilirubine faits simultanément sont différentes pour chaque type de maladie et par rapport à celles obtenues chez un sujet normal. Il faut souligner que les affections hémolytiques, hépatiques ou biliaires peuvent être concomitantes.

1. Les **affections hémolytiques** seront par exemple: drépanocytose (53), carence en G6PD (2), paludisme, etc.

(53) Voir la brochure illustrée n° 19, éditée a Kangu.

2. Les affections **hépatiques** seront par exemple: hépatite infectieuse à virus ou leptospires, cirrhoses, hépatite toxique, etc.

3. Les **obstructions biliaires** peuvent être causées par des tumeurs (cancer) ou des calculs (lithiase biliaire).

7. Recherche de sang dans l'urine

Le diagnostic d'une hématurie repose sur:

- l'examen **macroscopique*** des urines (voir plus haut);
- la mise en évidence de globules rouges lors d'un examen **microscopique*** d'un culot de centrifugation d'urine (voir plus bas);
- l'usage d'un test rapide comme **l'Occultest*** (54).

(54) Réactif de la firme Ames.

- On place une goutte d'urine bien mélangée au centre d'un papier de test fourni avec les comprimés.
- Un comprimé Occultest* est déposé au centre de la surface humectée.
- Puis on dépose deux gouttes d'eau sur le comprimé.
- S'il y a du sang dans l'urine, on observe une couleur bleue sur le papier autour du comprimé endéans les deux minutes, d'autant plus vite et plus fort qu'il y a plus de sang.

L'Hémastix* (55) est un test semblable. Une tige est plongée un instant dans l'urine bien mélangée. En cas d'hématurie, l'extrémité réactive vire au bleu en 30 secondes au maximum.

(55) Egalement de la firme Ames.

8. Détermination du pH de l'urine

Le pH est un chiffre qui caractérise l'acidité (moins que 7), la neutralité (à 7) ou l'alcalinité (plus que 7) d'un liquide, ici l'urine.

Normalement, les urines ont un pH acide, aux environs de 6. Si l'on y trempe un bout de papier Tournesol, il vire au rosé. Si les urines sont alcalines, le même papier vire au bleu.

Certains tests rapides sous forme de tiges permettent une estimation du pH (Hémacombistix* (56), Labstix*) (57).

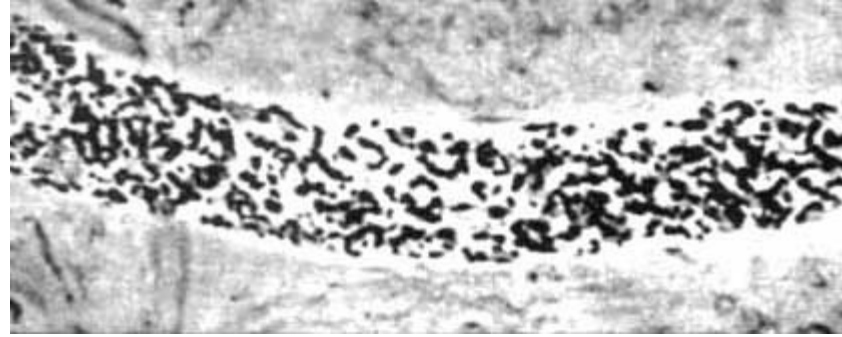
(56) Réactif de la firme Ames, combinant des estimations des protéines et du glucose du sang ainsi que du pH de l'urine.

(57) Idem, avec en plus une estimation des corps cétoniques.

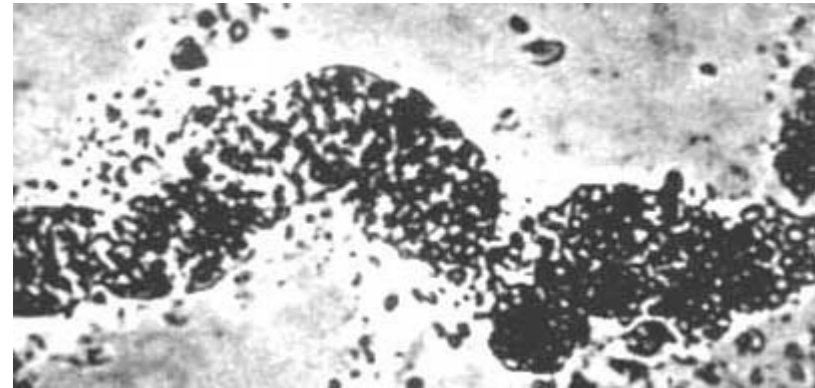
Les urines sont acides en cas de diarrhée grave, d'acidose diabétique, de jeûne ou de dénutrition, ou après ingestion de chlorure d'ammonium. Elles sont alcalines en cas de vomissements répétés, dans l'alcalose métabolique ou après ingestion de bicarbonate de sodium; certains microbes, comme le *Proteus*, peuvent donner des urines alcalines.



Cylindres hyalins (200X)



Cylindres épithéiaux et granuleux (200X)



Cylindres hématiques (150X)



Cylindres leucocytaires (150X)

9. Examen microscopique des urines

a) Méthode

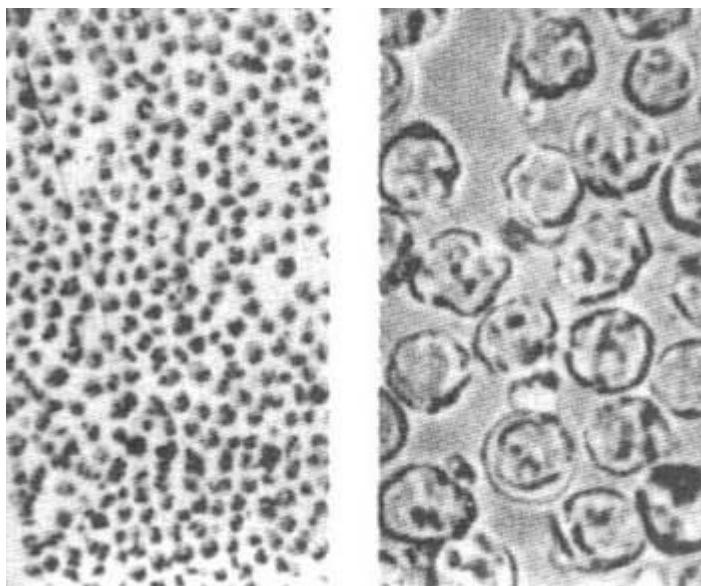
Les urines doivent être examinées dès que possible après l'émission, car les éléments et cellules qui s'y trouveraient peuvent se détruire rapidement. Pour la femme, les urines doivent être sondées (voir plus haut). Les flacons utilisés doivent être très propres. S'il y a un trouble des urines, on peut chauffer doucement et ajouter une goutte d'acide acétique à 2 % pour éliminer urates et phosphates (voir plus haut).

* Centrifugation

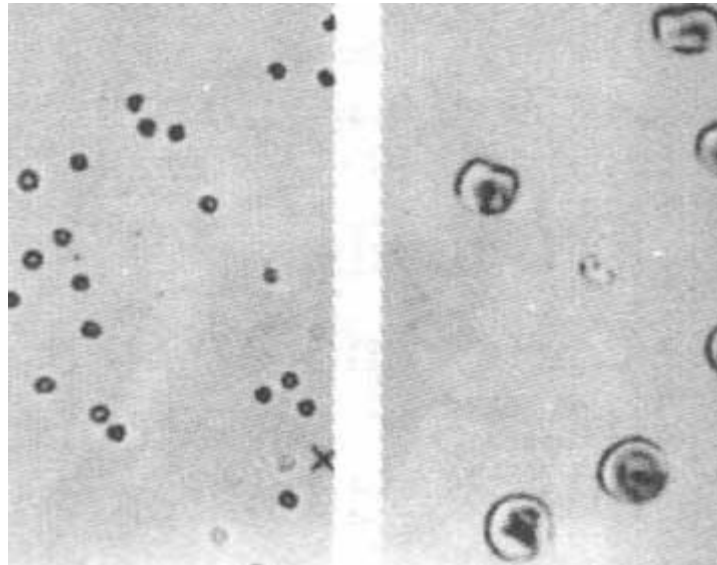
- Les urines doivent être d'abord bien mélangées, de manière à examiner un échantillon homogène.
- Placer 15 ml d'urine dans un tube et centrifuger pendant 5 minutes à 2 000 tours par minute environ.
- Il faut laisser la centrifugeuse s'arrêter spontanément pour éviter tout choc, qui remettrait le sédiment en suspension...
- On verse doucement l'urine au-dessus du sédiment.
- Puis avec une longue pipette très propre, on mélange le culot dans la petite quantité d'urine restante, et on en dépose une goutte entre lame et lamelle.

• Examen au microscope et notation des résultats

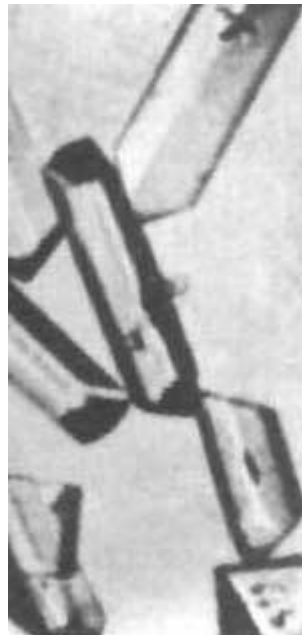
On examine en lumière réduite et au grossissement moyen (oculaire X 6, objectif X 45). On convient de noter l'abondance d'éléments à ce grossissement et après avoir centrifugé 15 ml d'urine.



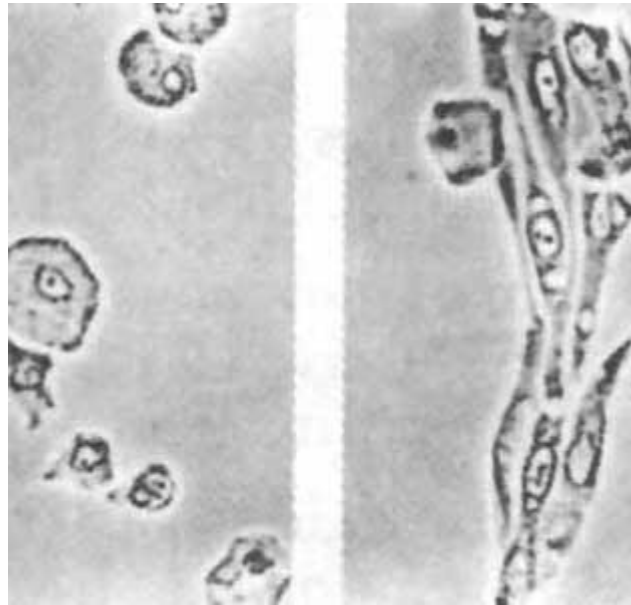
Globules blancs (150X - 500X)



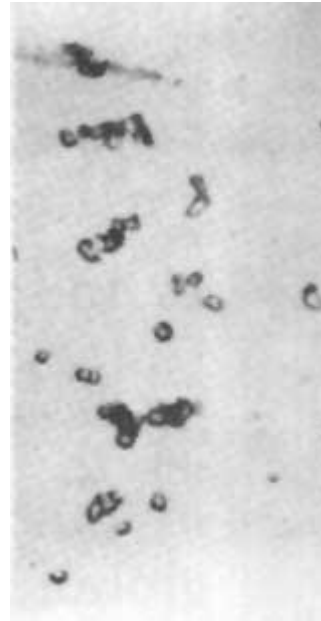
Globules rouges (150X - 250X)



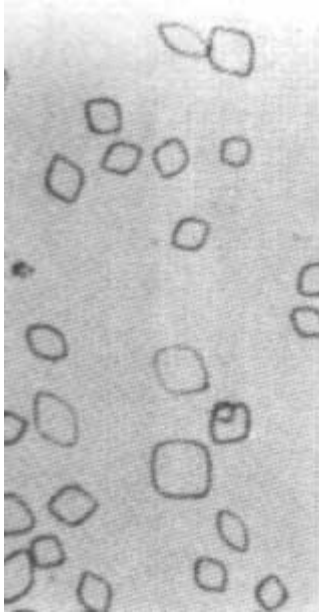
Phosphates (150X)



Cellules épithéliales (200X)



Urates (400X)



Acide urique (100X)



Oxalate de calcium (150X)

b) Description des éléments anormaux

1) Cylindres

Les cylindres sont des moulages des cavités tubulaires des reins; leur présence signifie une maladie du parenchyme rénal.

- **Cylindres hyalins:** lisses, sans granulations; ce sont des gels de protéines;
- **cylindres épithéliaux et granuleux:** d'aspect granuleux; ils sont constitués de débris de cellules épithéliales, avec des proportions variables de globules blancs et rouges;
- **cylindres hématiques:** constitués de globules rouges; on les observe en cas d'hématurie ou de glomérulo néphrite aiguë;
- **cylindres leucocytaires:** ce sont des amas de globules blancs, qu'on trouve dans les pyélo néphrites.

2) Globules rouges

Ils se présentent sous forme de petits disques biconcaves, ce qui permet de les distinguer des levures (ovoïdes et de taille variable) qui prolifèrent dans les flacons malpropres. Les GR sont souvent crénelés si les urines sont hypotoniques.

3) Globules blancs

Ils peuvent être isolés, groupés en petits amas ou en cylindres (voir ci-dessus). On essaie de reconnaître les polynucléaires et les lymphocytes, et d'en apprécier le nombre.

4) Cellules épithéliales

D'origine rénale, uréthrale ou vaginale, elles sont en général de grande taille avec des noyaux petits.

5) Bactéries

La découverte de microbes n'a de valeur que si l'examen est pratiqué de suite après l'émission. Il est indiqué de faire un étalement coloré (au bleu de

méthylène ou au Gram: voir plus loin).

6) Cristaux

Les cristaux les plus fréquents sont:

- cristaux d'**acide urique** en forme de tonneau, de carré, de losange ou de rosace, solubles par chauffage;
- cristaux d'**urates** amorphes ou en forme de sphères épineuses, solubles par chauffage;
- cristaux de **phosphates** ammoniaco-magnésiens, en forme de cercueil, solubles en acidifiant les urines;
- cristaux d'**oxalates de calcium** en forme d'enveloppe ou de sablier, solubles en acidifiant les urines.

D'autres cristaux peuvent être observés, mais ils sont plus rares.

7) On peut observer également dans les urines:

- des trichomonas, surtout chez la femme;
- des spermatozoïdes;
- des filaments de mucus, en cas d'inflammation;
- de l'hémosidérine (après coloration spéciale, elle apparaît sous forme de granules dans des débris cellulaires; il s'agit d'hémoglobine transformée par passage dans les reins, lors de maladies hémolytiques chroniques, comme la drépanocytose);
- des oeufs de schistosomes (voir leur description à propos de l'examen de selles); on peut les observer également dans les urines non centrifugées, si on examine le sédiment spontané de l'urine émise en fin de miction.

3. Examens des selles

1. Examen macroscopique des selles

- Manipulation

Les selles sont apportées au laboratoire si possible dans de petites boîtes en carton paraffiné (ou dans des boîtes de Pétri en verre), mais non pas dans du papier, ce qui les déshydraterait. Après usage, les récipients en verre, baguettes en verre et lames ayant servi à l'examen sont rincés à l'eau puis lavés et brossés dans une solution détergente (58). Les récipients en carton, les spatules en bois et les lamelles seront jetés. On n'oubliera pas de se laver soigneusement les mains à l'eau et au savon après toute manipulation de selles.

(58) Par exemple, une solution de Savlon* à 2 %.

- Aspect des selles

Il faut toujours noter:

- la couleur (normale, jaune, "mastic", noire...);
- la présence de sang rouge, en stries sur une selle normale, ou bien dilué dans une selle diarrhéique;
- la présence de mucus, de débris alimentaires, de vers, ou parfois de médicaments non résorbés;
- la consistance (dure, pâteuse, liquide).

2. Examen microscopique des selles

Si la selle est pâteuse, on prélève un fragment quelconque; si elle est très liquide:

- écarter le surnageant et prélever des fragments solides pour la recherche des oeufs.
- examiner le liquide et les parties glaireuses pour la recherche des protozoaires (amibes, giardia).

a) Examen à frais (ou direct)

- Un petit grain de matière fécale est prélevé avec une baguette en verre et placé sur une lame avec une goutte de solution "physiologique". Après avoir mélangé, on examine entre lame et lamelle, au faible grossissement et à lumière réduite.

- On note la présence de:

- globules rouges ou blancs;
- mucus;
- oeufs ou kystes de parasites (voir figure);
- parasites mobiles ou immobiles (voir figure);
- cristaux de Charcot-Leyden (de l'amibiase chronique);
- etc.



L'examen de selles fait partie de l'examen de routine que l'infirmier devrait pratiquer à chaque consultation de dispensaire (Uberig).



L'infirmier du laboratoire montre à chaque écolier les oeufs de ses propres vers intestinaux. Cette démonstration favorise la modification du comportement en face du péril fécal (Uberig).

b) Diagnostic des parasitoses intestinales (oeufs et kystes)

- Si l'examen à frais est négatif, et qu'on soupçonne une parasitose, il faut utiliser une technique **d'enrichissement des selles**, comme celle de Ritchie.

- On place dans un récipient environ 2 grammes de selles.
- On ajoute 10 millilitres de solution physiologique et on mélange.
- Cette émulsion est versée dans un tube à centrifuger à travers un morceau de gaze de 10 x10 cm.
- On centrifuge à 2 500 tours pendant une minute, et on décante le surnageant.
- Au sédiment on ajoute du formol à 10 % (59) jusqu'à mi-hauteur du tube, puis on mélange.

(59) Solution à 10 % du formol du commerce (à 40 %) avec de l'eau distillée.

- On ajoute ensuite 3 ml d'éther (60) jusqu'aux 3/4 du tube, on bouche et on agite pendant 30 secondes.

(60) Attention!: loin d'une flamme, car l'éther est inflammable.

- On centrifuge à nouveau à 1 500 tours durant une minute.
- Il y a alors 4 couches dans le tube (de haut en bas): éther en surface, couche de débris de selles, formol et, au fond, culot contenant les parasites.
- Déverser les 3 couches surnageantes.
- Le sédiment est mélangé avec le liquide restant, puis examiné au microscope, à frais (pour les oeufs et les larves, voir ci-dessous) ou en solution iodée* (pour les kystes d'amibes, voir plus bas).

Voici une autre méthode d'enrichissement des selles plus simple et qui donne cependant de bons résultats.

- Préparer une solution sursaturée de chlorure de sodium.
- En remplir à moitié un tube à essai.
- Y mettre un peu de selles (le volume de trois arachides).
- Homogénéiser en secouant le tube.
- Compléter le volume de solution saline presque jusqu' au-dessus du tube.
- Retourner plusieurs fois le tube.
- Ajouter la solution jusqu'à y voir un ménisque bombant.
- Y déposer à plat une lamelle couvre-objet et la laisser pendant 30 minutes.
- Prendre la lamelle horizontalement dans une pince tenue verticalement.
- Déposer la lamelle sur une lame porte-objet et examiner au microscope.

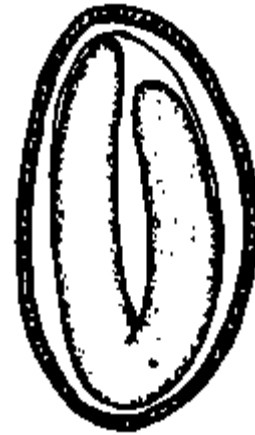
Principaux oeufs de parasites intestinaux (d'après J. Vandepitte)



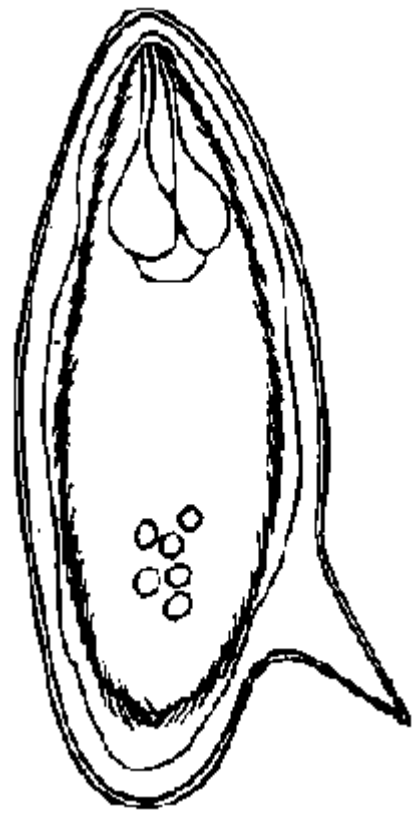
Taenia



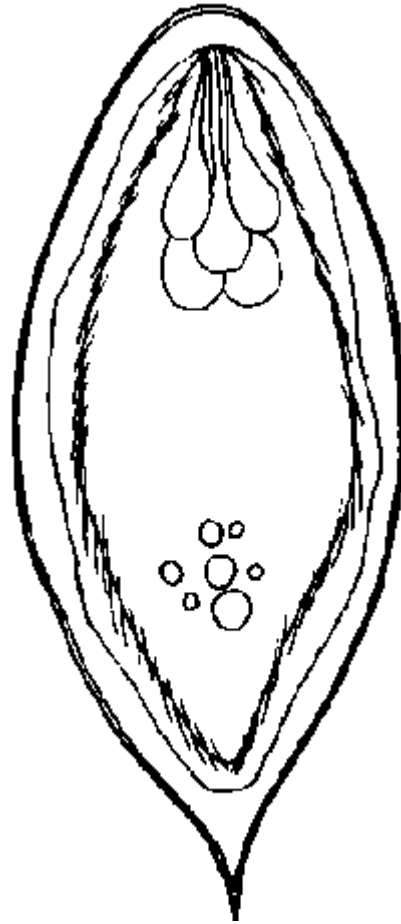
Trichocéphale (*Trichuris trichiura*)



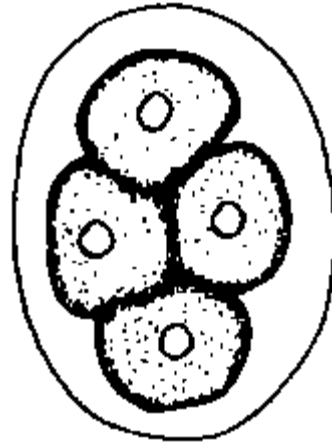
Oxyure (*Enterobius vermicularis*)



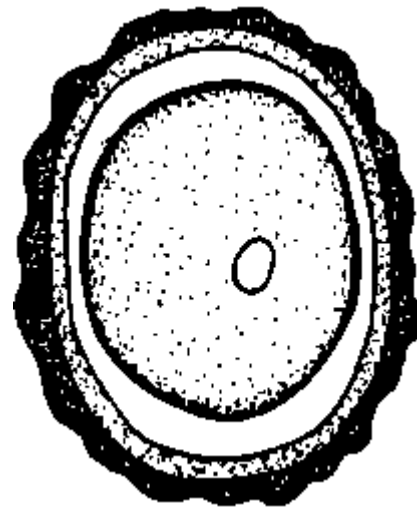
Schistosoma mansoni (dans les selles)



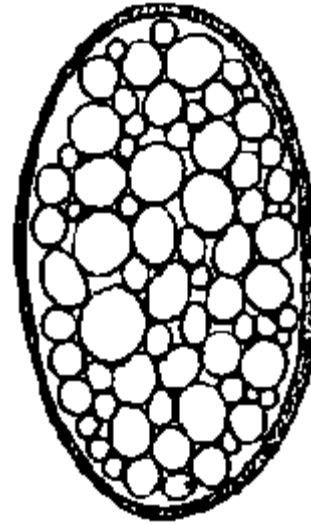
Schistosoma haematobium (dans les urines)



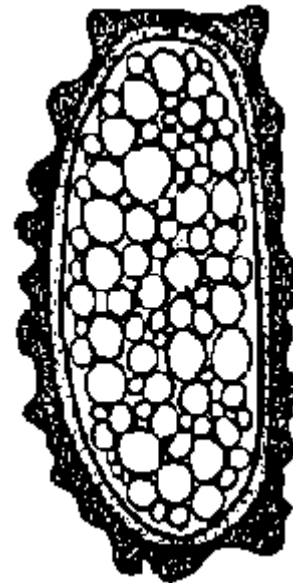
Ankylostome (*Necator americanus*)



Ascaris fertile



Ascaris infertile



Ascaris infertile

- *Principaux oeufs de parasites intestinaux* (61)

(61) Rappelons que les anguillules (*Strongyloïdes stercoralis*) apparaissent le plus souvent sous forme de larves mobiles dans les selles.

• **Oeufs typiques:**

1 - oeuf en petit tonneau ou petit citron, à deux bouchons clairs opposés, brun orangé: **trichocéphale** (*Trichuris trichiura*);

2 - oeuf mamelonné, brun foncé: **ascaris** (*Ascaris lumbricoïdes*) (62).

(62) Notons que parfois les oeufs d'ascaris sont dépourvus de leur coque mamelonnée; ils apparaissent alors avec une masse centrale brune et segmentée.

• **Oeufs volumineux à éperon:**

3 - éperon terminal: **Schistosoma hématobium** (dans urines);

4 - éperon latéral: **Schistosoma mansoni** (dans selles).

• **Oeufs différents des précédents:**

5 - oeuf à coque double, lisse et contenant un embryon: **oxyure** (*Enterobius vermicularis*);

6 - oeuf à coque mince, contenant 2 ou 4 cellules ou un embryon: **ankylostome** (*Ancylostoma duodenale* ou *Necator americanus*).

• **Oeufs plus rares:**

7 - oeufs sphériques à coque épaisse et 6 crochets: **ténia** (*saginata* ou *solium*): bruns, coque striée; *hymenolepis (nana)*: coque incolore;

8 - oeufs à clapets: divers (*douve*, *bothriocéphale*, etc).

c) Diagnostic de l'amibiase (*Entamoeba histolytica*)

La dysenterie amibienne demande un diagnostic aussi précis que possible. Il faut distinguer la recherche des formes végétatives et celle des kystes.

- *Recherche des formes végétatives*

• **Les amibes** proprement dites ne peuvent être observées vivantes que si on examine à frais les selles immédiatement après l'émission. On peut alors observer leurs mouvements par formation de pseudopodes. L'amibe a un diamètre 3 ou 4 fois plus grand que celui d'un globule rouge. Son protoplasme contient un noyau, des particules et des globules rouges phagocytés (d'où le nom "hématophages"). L'examen à frais permet d'observer ses déplacements rapides (63), mais ceux-ci cessent bientôt dès que la préparation se refroidit: les amibes se mettent alors en boule et ne bougent plus.

(63) Ces caractères permettent de distinguer cette amibe pathogène des autres qui ne le sont pas:

- Entamoeba coli a des pseudopodes courts et lents, et ne contient jamais de GR;
 - Entamoeba minima est plus petite et se trouve en dehors des cas de dysenteries aiguës.
- On peut mieux observer les amibes immobiles par une coloration à l'iode. On dilue un peu de selle dans une goutte de solution iodée (64), et on examine entre lame et lamelle. Les amibes apparaissent en jaune brun (surtout le noyau) (65), sur un fond jaune clair.

(64) Solution iodée: dissoudre 1 gramme d'iodure de potassium dans 100 millilitres d'eau distillée; ensuite ajouter 2 grammes d'iode pulvérisé.

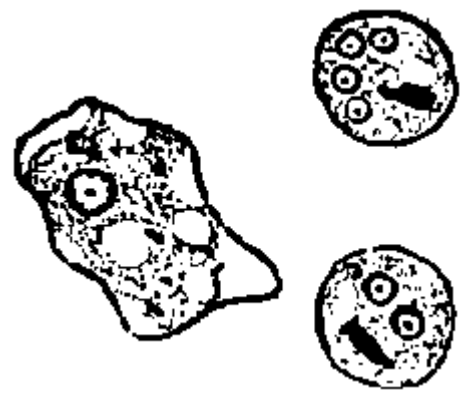
(65) Le noyau contient un "karyosome" (grain foncé) central chez E. histolytica et excentrique chez E. coli.

- Recherche des kystes

On peut les rechercher à frais, dans un culot de centrifugation après enrichissement (voir plus haut), ou encore en solution iodée (voir ci-dessus). Les kystes d'E. histolytica ont un diamètre égal à ceux d'un à deux GR; ils contiennent d'habitude 4 noyaux (parfois 1 ou 2) et un bâtonnet épais. Ceux d'E. coli sont plus grands (3 GR) et contiennent au maximum huit noyaux.



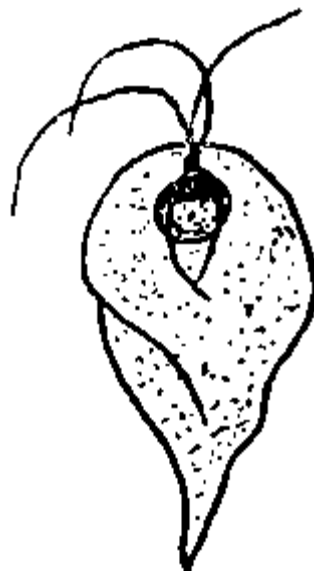
Entamoeba coli



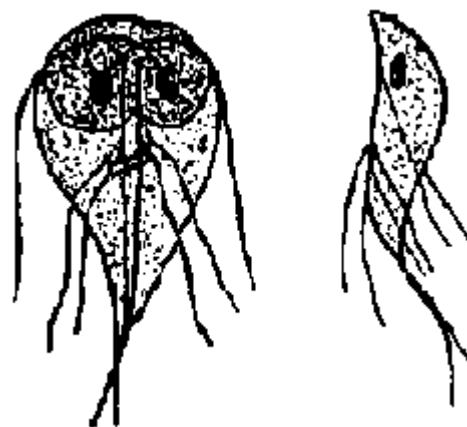
Entamoeba histolytica



Trichomonas



Chilomastix



Giardia lamblia

Remarque. Il ne faut pas confondre les amibes avec les autres protozoaires flagellés qu'on peut trouver dans l'intestin: Trichomonas, Chilomastix, Giardia et Balantidium (voir figure).

Commentaires

Le diagnostic des affections parasitaires doit être fait avec soin, car ce sont des maladies fréquentes et parfois graves. Chaque fois que c'est possible, il faut mettre à profit le contact avec le malade et sa famille pour donner une information et une éducation sanitaires dans ces cas (66).

(66) Voir la brochure "Vers intestinaux", ainsi que les brochures illustrées n^{os} 4, 5 et 6, éditées à Kangu.

3. Examen de la digestion

L'examen de selle **en solution iodée** permet d'observer des résidus de la digestion:

- **amidon** coloré en bleu ou violet, sous forme de grains ou inclus dans des membranes de cellulose;
- **cellulose**, résidus des membranes végétales, qu'on retrouve toujours;
- **fibres musculaires** plus ou moins digérées, en débris rectangulaires colorés en brun;
- **graisses** sous formes de gouttelettes jaunes-bruns, ou d'aiguilles enchevêtrées.

Ces résidus sont augmentés dans les cas de transit accéléré, d'insuffisance hépatique ou pancréatique, etc.

4. Recherche des hémorragies occultes

Un examen rapide est possible avec l'**Hématest*** (67).

(67) De la firme Ames. L'Occultest* peut également être utilisé (voir plus haut).

- On place un mince frottis de selle sur le papier test fourni (ne pas utiliser une émulsion).
- On met un comprimé d'Hématest au centre du frottis et on verse une goutte d'eau sur le comprimé.
- Après 5 à 10 secondes, on verse une seconde goutte.
- En cas de présence de sang dans les selles, une zone diffuse de couleur bleue apparaît sur le papier filtre autour du comprimé, endéans les deux minutes.

D'autres réactions peuvent être utilisées, notamment la réaction à la benzidine, mais leur préparation est compliquée.

Cette recherche des hémorragies occultes perd de son intérêt dans les régions où l'ankylostomose est fréquente, car elle est alors souvent positive.

4. Examen du liquide céphalo-rachidien (LCR)

1. Prélèvement et examen macroscopique

- On procède si possible comme suit:

- **prélever** stérilement 1 à 2 ml pour le laboratoire de bactériologie (voir plus loin);
- prélever ensuite 5 ml environ pour la numération des éléments (minimum un ml), la détermination des protéines et du glucose.

- On peut examiner **macroscopiquement** le LCR:

- normalement, il est limpide, clair, "eau de roche";
- suivant les cas pathologiques, il peut rester clair, ou devenir opalescent (68), légèrement ou franchement trouble, purulent, doré ("xanthochromique") ou rosé (présence de sang).

(68) Pour un LCR opalescent ou légèrement trouble, on trouve facilement 100 à 200 éléments par mm (voir plus loin).

- La **pression** avec laquelle le LCR sort lors de la ponction lombaire est aussi un signe (69): la pression peut être normale (goutte à goutte assez rapide en position assise), augmentée (70), diminuée ou nulle (LCR "bloqué" dans certaines méningites).

(69) La pression peut être mesurée avec le manomètre de Claude.

(70) Dans ce cas, il faut prélever le minimum de liquide, immédiatement retirer l'aiguille et coucher le malade.

2. Numération des éléments

On utilise la cellule de Nageotte, dont la profondeur est de 0,5 mm; elle est constituée de longs rectangles de 1,25 mm³.

- Si le liquide ne contient **pas de globules rouges**:

- Déposer une goutte du LCR dans la cellule recouverte de son couvre-objet.
- Examiner au grossissement moyen.
- On compte les éléments présents dans huit rectangles (c'est-à-dire dans $8 \times 1,25 = 10 \text{ mm}^3$) et on divise le chiffre obtenu par 10.
- On obtient normalement de 1 à 5 lymphocytes par mm^3 .

- Si le **LCR contient des GR:**

- A un volume de **LCR** (0,2 ou 0,5 ml, par exemple) ajouter le même volume de liquide servant à la numération des globules blancs (71), préalablement filtré.

(71) Liquide de Türck, voir plus haut. Les GR sont ainsi hémolysés.

- On compte les éléments présents dans huit rectangles et on divise par cinq.

- Si on utilise la cellule de Fuchs-Rosenthal, il faut compter les éléments dans cinq grands carrés de 1 mm de côté.

3. Dosage des protéines du LCR

- On verse 4 ml de LCR dans le tube de Sicard, soit jusqu'à la marque 4 ml.
- On chauffe légèrement à la flamme jusqu'à l'apparition des premières bulles de gaz à l'intérieur du tube (environ 70°).
- Puis on mélange en retournant le tube bouché.
- On ajoute ensuite 20 gouttes d'acide trichloracétique à 20 %.
- On mélange à nouveau.
- Ensuite, le tube est laissé verticalement pour sédimentation.
- Après 3 heures, on peut déjà apprécier provisoirement le résultat, mais il faut 24 heures pour une sédimentation complète.

Chaque division du tube correspond à 0,2 g pour mille. Normalement, le sédiment ne peut dépasser les deux premières divisions, soit environ 0,3 g pour mille, en partant du fond du tube. Le chiffre 1 correspond à 1 gramme pour mille, le chiffre 2 à 2 grammes.

4. Dosage semi-quantitatif du glucose du LCR

- On utilise le réactif de Benedict (72) pour LCR.

(72) Pour préparer ce réactif, on dissout 17,3 g de sulfate de cuivre dans 150 ml d'eau distillée à 40°C. Ensuite, on dissout 100 g de carbonate de sodium anhydre dans 600 ml d'eau et on ajoute 173 g de citrate de sodium en agitant. Mélanger les deux solutions, puis ajouter de l'eau distillée jusqu'à un litre.

- Prendre cinq tubes à essai et y mettre dans chacun 1 ml de Benedict.
- On ajoute des volumes croissants de LCR:

dans le premier tube: 0,05 ml de LCR;
dans le second tube: 0,1 ml de LCR;
dans le troisième tube: 0,15 ml de LCR;
dans le quatrième tube: 0,20 ml de LCR;
dans le cinquième tube: 0,25 ml de LCR.

(On peut aussi ajouter simplement 1, 2, 3, 4, ou 5 gouttes, à l'aide d'un compte-gouttes calibré à 20 gouttes pour 1 ml).

- Mettre les 5 tubes dans un bain d'eau bouillante pendant 10 minutes.
- Noter le nombre de tubes "positifs" où se produit une couleur verte ou orange.

Interprétation

Réaction positive dans 5 tubes = 50 mg % ou plus;
Réaction positive dans 4 tubes = 45 mg %;
Réaction positive dans 3 tubes = 35 mg %;
Réaction positive dans 2 tubes = 25 mg %;
Réaction positive dans 1 tube = 15 mg %;
Réaction positive dans 0 tube = 10 mg % ou moins.
Les valeurs normales vont de 50 à 100 mg %.

5. Examen microscopique du LCR

Après centrifugation, un frottis coloré (73) peut être examiné au microscope. Il permettra de mieux préciser la répartition des différentes cellules observées, et notamment les globules blancs. Cet examen ne permet pas de mettre en évidence les microbes responsables d'une infection. Il faut pour cela utiliser des techniques de bactériologie (voir plus loin).

(73) Par exemple, coloré au May-Grünwald-Giemsa* (voir plus haut).

5. Examen des liquides d'épanchement

1. Examen macroscopique

Lors du prélèvement d'un liquide par ponction (pleurale, abdominale, etc.), on notera:

- le **volume** recueilli;
- l'**aspect** général: liquide transparent, trouble, laiteux, hémorragique ou purulent...;
- la **couleur**: jaune citrin, jaune foncé, brunâtre, verdâtre, etc.;
- la **tendance spontanée à la coagulation**:
 - on prélève un tube à essai du liquide, et on le laisse une heure sur une étagère.
 - On note l'apparition de quelques filaments de fibrine ou une coagulation en masse.
 - La tendance à la coagulation est toujours le propre d'un exsudât inflammatoire.
- la **densité** peut être mesurée comme pour les urines (voir plus haut).

2. Recherche de protéines

a) Réaction qualitative de Rivalta

Dans un verre cylindrique, on ajoute deux gouttes d'acide acétique glacial à 100 ml d'eau distillée. A l'aide d'une pipette, on laisse tomber dans le verre quelques gouttes (4 à 5) du produit à examiner.

La réaction de Rivalta est positive lorsqu'il se forme de petits nuages blancs persistants et descendant lentement: le liquide examiné est un exsudât assez riche en protéines, et non un simple transsudat.

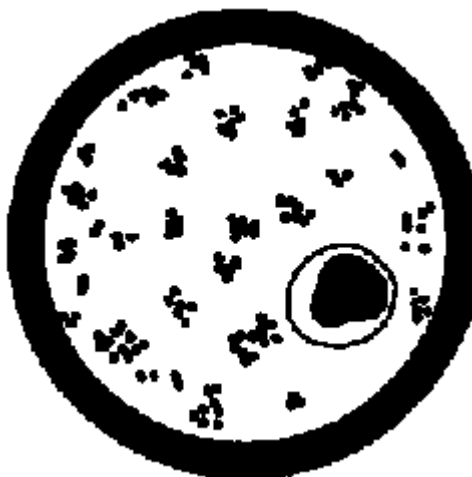
b) Dosage des protéines

On procédera exactement comme pour les urines. Les exsudats péritonéaux et pleuraux seront d'abord centrifugés et dilués dix fois.

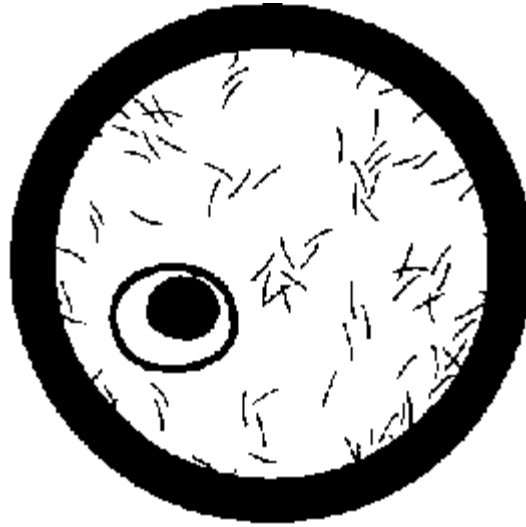
3. Examen cytologique

Pour préciser les cellules présentes dans un liquide d'épanchement, on le prélève avec un anticoagulant pour éviter les caillots de fibrine. Le liquide est ensuite centrifugé, et le culot prélevé, étalé sur une lame de verre et coloré au May-Grünwald-Giemsa (74).

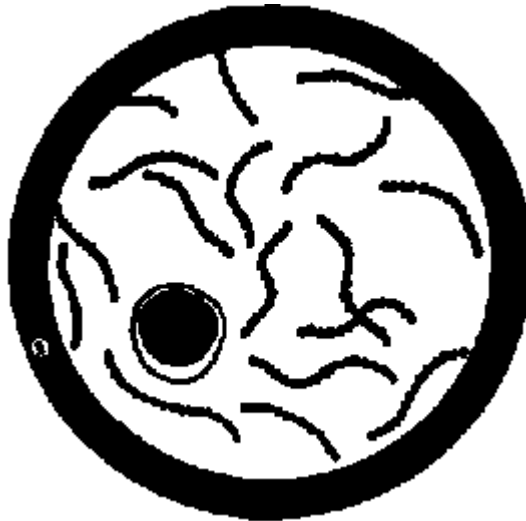
(74) Fixer d'abord avec 1 ml de May-Grünwald pendant 3 minutes; colorer ensuite durant une minute en ajoutant 1 ml d'eau tamponnée. Recouvrir alors pendant 1 à 5 minutes de Giemsa dilué à 3 gouttes pour 2 ml d'eau.



Staphylococcus



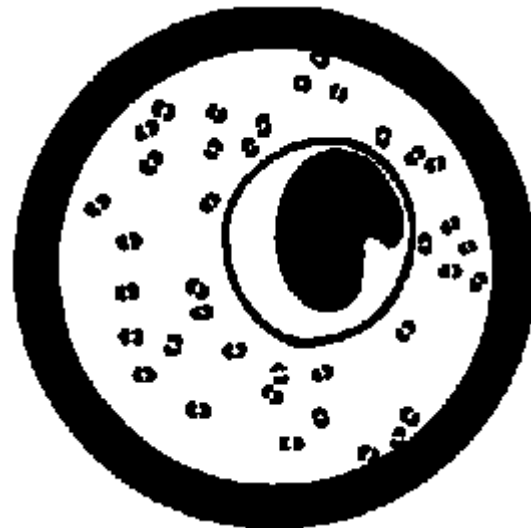
Bacille tuberculeux



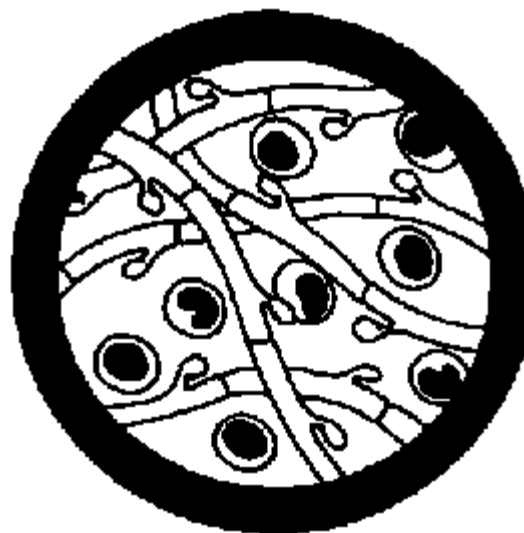
Streptococcus



Trichomonas vaginalis



Gonococcus



Monilia albicans

6. Notions de bactériologie

La bactériologie est l'étude des microorganismes responsables des maladies infectieuses. De nombreuses techniques visent à mettre en évidence les germes responsables. Il faut distinguer les examens courants, à la portée du Centre de Santé, et des examens plus spécialisés.

A. Examens courants

On tente de voir les microbes responsables d'une affection en effectuant un **examen direct** d'un prélèvement de produit pathologique qu'on suppose riche en germes. Après **prélèvement** du produit de toute provenance (sécrétions diverses, expectorations, écouvillon de gorge, frottis uréthéraux ou vaginaux, culot d'urines, selles, etc.), on va **étaier** en couche mince et le colorer. On pourra alors l'examiner au **microscope** au fort grossissement (à l'immersion, condensateur relève, diaphragme ouvert, miroir concave) (75).

(75) Voir le microscope et son utilisation en annexe.

1. Coloration simple au bleu de méthylène

- Fixer l'étalement du produit à examiner sur la lame en séchant à la chaleur douce.

- Colorer pendant 2 à 3 minutes avec la solution de bleu de méthylène (76).

(76) Voir la formule de cette solution à propos de la méthode de Ziehl, plus bas.

- Puis rincer doucement avec de l'eau distillée.
- Quand la préparation est sèche, examiner au microscope.

Résultats: cette méthode simple colore tous les éléments de la préparation en une même couleur bleue. On distingue cependant les globules blancs, les microbes banaux (voir plus loin), les diplocoques extra- et intra-cellulaires de la méningite ou de la blennorragie (77), les filaments mycéliens, etc.

(77) La blennorragie ne peut être affirmée avec certitude que dans la période aiguë, où l'on voit de nombreux diplocoques en grains de café dans les globules blancs. De nombreux diplocoques extra-cellulaires ne permettent pas d'affirmer le diagnostic avec certitude, mais indiquent malgré tout un traitement efficace des partenaires (voir aussi la brochure illustrée n° 10, éditée à Kangu).

2. Coloration par la méthode de Gram

Cette méthode est plus longue mais nettement plus précise que la précédente; elle permet de mieux distinguer les différents microbes.

Technique

- On **fixe** à la chaleur douce, en évitant les températures trop fortes par un contrôle au dos de la main.
- La lame est couverte de **violet** de gentiane (ou de crystal violet) en solution aqueuse à 1 %; (on peut aussi y ajouter 5 gouttes de bicarbonate de soude en solution aqueuse à 5 %). Le violet est laissé durant une **minute**.
- Jeter le colorant violet (et rincer éventuellement à l'eau).
- Couvrir de lugol (78) pendant **une minute** à une minute et demie.

(78) Solution de lugol: iodure de potassium 2 g, iode 1 g, eau distillée jusque 200 ml.

- Jeter le lugol (et rincer éventuellement à l'eau).
- **Décolorer** à l'**alcool** dénaturé ou à l'acétone-éther (79), en versant goutte à goutte sur la lame, jusqu'à écoulement clair du colorant.

(79) Solution d'acétone (300 ml) - éther (100 ml).

- **Laver** rapidement à l'eau.
- **Recolorer** à l'aide de fuchsine (80) (ou de safranine rouge) pendant 5 à 10 secondes.

(80) Fuchsine phéniquée diluée: 5 volumes par 95 volumes d'eau.

- Laver à l'eau, sécher et examiner au microscope.

Résultats: les germes Gram (+) sont colorés en bleu violet, les Gram (-) et le fond sont rosés. Les cellules sont rosés, avec leur noyau bleu.

3. Coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen

Cette coloration permet de colorer sélectivement certains microbes, tels que ceux du genre *Mycobacterium* (**le bacille de Koch** de la tuberculose et **le bacille de Hansen** de la lèpre). Ces microbes ont, contrairement à d'autres germes, la propriété de résister à la décoloration par l'alcool et l'acide nitrique (ou chlorhydrique), lorsqu'on les a colorés en rouge par la fuchsine phéniquée.

Technique

- Fixer à la chaleur douce (voir plus haut).
- Placer la préparation sur le pont à coloration, et couvrir de fuchsine de Ziehl (81) pendant 20 minutes (ou 5 minutes seulement en chauffant à plusieurs reprises sur une flamme, jusqu'à l'apparition de vapeurs, mais sans faire bouillir le colorant).

(81) Solution saturée de fuchsine basique dans l'alcool éthylique (105 ml) et une solution de phénol à 5 % (895 ml).

- Laver la lame à l'eau distillée.
- Décolorer à l'alcool-acide (82), jusqu'à ce que ce dernier s'écoule clair.

(82) Alcool éthylique à 95 % (97 ml) et acide chlorhydrique concentré (3 ml).

- Colorer enfin le fond et les bacilles non acido-résistants au moyen de bleu de méthylène (83) pendant 30 secondes.

(83) Bleu de méthylène (0,3 g), alcool éthylique à 95 % (30 ml) et eau distillée 100 ml.

- Laver à l'eau et laisser sécher.

Résultats: les bacilles acido-résistants (BK, BH) sont visibles sous forme de bâtonnets rouges, les autres bactéries et le fond sont bleus. Noter l'abondance de bacilles (+ à +++) et la présence de groupements de bacilles (amas, palissade, globi).

Commentaires

La coloration de Ziehl peut être effectuée sur n'importe quel échantillon bien étalé sur une lame. Cet examen est d'une importance très grande, vu qu'il permet de mettre en évidence les microbes chez des malades atteints de formes contagieuses ("bacillifères", "ouvertes") de tuberculose et de lèpre (84). Il faudra donc veiller à travailler avec une technique bien, au point et informer les malades et la population saine pour qu'elle comprenne l'importance de ces examens et y participe effectivement.

(84) Voir les brochures illustrées n^{os} 9 et 23 éditées à Kangu.

- Au sujet de la **tuberculose**, l'examen le plus important est celui des **crachats** des personnes qui toussent depuis plus de quinze jours (85), et qui constituent le réservoir de transmission des BK. Il faut veiller à examiner de véritables expectorations, et non pas de la salive. Pour un diagnostic précoce, si le malade n'a pas d'expectorations, et qu'on soupçonne une tuberculose pulmonaire, on peut faire un tubage gastrique et examiner les sécrétions obtenues après "homogénéisation" (86). On peut utiliser le même procédé pour le LCR, le pus, les selles...

(85) Voir aussi la brochure "Tuberculose", éditée à Kangu.

(86) Pour homogénéiser des expectorations ou des sécrétions suspectes, on les place dans un flacon avec un volume identique de soude caustique à 4 % On agite durant 5 minutes, puis on laisse à la température ordinaire durant 30 minutes. On centrifuge pendant 15 minutes à 3 000 tours. On étale le culot avec une anse; on fixe à la chaleur et on colore au Ziehl.

- Pour la **lèpre**, on recherche les BH le plus souvent au niveau du **mucus nasal** (écouvillon en cas de rhinite lépromateuse contagieuse), du lobule de l'oreille ou des bords des taches.

Il faut noter que la technique de Ziehl-Neelsen ne permet pas la mise en évidence de bacilles acido-résistants chez tous les cas de lèpre où on s'attendrait à les trouver. D'autres techniques de coloration, et notamment le **Gram** permettent de déceler des BH qui coexistent avec les bacilles acido-résistants et précèdent leur apparition dans les lésions. De ce fait, le Ziehl n'est pas suffisant pour décider de la "négativation" lors du traitement d'un cas de lèpre: il faut le compléter au moins par un Gram.

Plus encore que dans la tuberculose, la longueur de l'évolution de la maladie recommande une bonne éducation sanitaire des malades et de leur famille, afin d'obtenir une bonne régularité du traitement.

B. Examens plus spécialisés

Des colorations spéciales sont parfois utilisées, comme celle de Fontana pour le tréponème de la syphilis.



Le laboratoire permet de connaître la fréquence des principales maladies infectieuses et ainsi de mieux orienter l'effort à fournir par le service médical. Ici la recherche du bacille de Hanssen dans le mucus nasal. (OMS)



Pour certains examens plus compliqués, des techniques spécialisées sont utilisées dans les hôpitaux régionaux. (OMS)

D'autre part, dans les hôpitaux plus importants, des techniques bactériologiques plus complexes permettent une identification précise du germe responsable d'une maladie infectieuse et la mise au point du traitement efficace pour lutter contre le germe en cause.

On suit en général ce schéma:

1. Culture

1. Culture: le germe responsable est prélevé à partir d'un produit pathologique variable suivant les cas (culture d'un écouvillon, d'une expectoration, de sang, d'urine, de selle, de LCR ou d'un liquide d'épanchement). Une petite quantité du produit contenant quelques germes est déposée et étendue sur la surface d'un "milieu" de culture adapté, dans une boîte de Pétri (boîte en verre, ronde, plate, munie d'un couvercle).

Le milieuensemencé est placé en "incubation", c'est-à-dire dans un appareil (étuve) maintenant la température constante à 37° C.

Après 24 heures en général, les microbes se sont abondamment multipliés et couvrent l'ensemble de la surface du milieu, en formant souvent de petits amas arrondis, appelés "colonies". Dans certains cas, le développement microbien est plus lent. C'est le cas du BK responsable de la tuberculose, qui doit êtreensemencé sur un milieu spécial (de Loewenstein) et laissé en incubation pendant plusieurs semaines. Parfois même, il est nécessaire d'inoculer le germe à un animal de laboratoire (cobaye, par exemple), pour laisser le microbe se développer en quelques semaines; l'animal est ensuite sacrifié et les lésions, tuberculeuses par exemple, peuvent alors être reconnues. Dans d'autres cas, la culture n'est pas encore possible actuellement en dehors de conditions expérimentales compliquées. C'est le cas du BH, bacille de la lèpre, qui se montre très exigeant.

2. Identification

2. Identification: une fois multipliés en culture, les germes responsables sont facilement identifiés et reconnus, car ils sont devenus nombreux et leur aspect en culture est assez typique pour chaque espèce. Souvent, il est nécessaire, pour une identification complète, d'effectuer des réactions biochimiques ou immunologiques (87) spécifiques pour chaque type de microbe, un peu comme on le fait pour déterminer les groupes sanguins.

(87) L'immunologie concerne l'étude des réactions antigène-anticorps (voir aussi plus loin).

3. Antibiogramme

3. Antibiogramme: dernière étape des examens bactériologiques, il consiste à déterminer quels antibiotiques sont efficaces pour lutter contre le germe cultivé. On utilise en général la méthode des "disques". De petits disques, imprégnés chacun d'un antibiotique différent et marqués, sont déposés à égale distance l'un de l'autre sur la surface d'un milieu ayant permis le développement d'un germe, en boîte de Pétri.

Ce milieu est à nouveau placé en incubation pendant 24 heures, au bout desquelles on observe le cercle d'activité de chaque disque dans le milieu de culture qui l'entoure. Suivant l'efficacité de l'antibiotique sur le germe en question, on pourra voir une surface plus ou moins étendue où les colonies microbiennes ont disparu. On peut ainsi choisir avec quasi certitude le traitement le plus efficace. Remarquons cependant qu'il faut environ 48 heures pour obtenir cette précision, ce qui est parfois une réponse trop tardive pour commencer un traitement contre une maladie infectieuse grave. D'autre part, le milieu réel du corps du malade n'est pas forcément tout à fait comparable au milieu de culture en laboratoire, ce qui fait qu'on peut observer certaines discordances entre les résultats cliniques et les renseignements donnés par le laboratoire.

7. Notions d'immunologie

L'immunologie étudie les réactions de défense des êtres vivants, et, par conséquent, les réactions entre antigènes et anticorps (voir plus haut ces notions à propos des groupés sanguins).

a. Trypanosomiase

a) De la présence de certains anticorps dans l'organisme, on peut parfois tirer des conclusions diagnostiques intéressantes. Nous avons déjà vu plus haut qu'on pouvait, par exemple, diagnostiquer la **trypanosomiase** (maladie du sommeil) par la détection des anticorps dans une simple goutte de sang déposée et séchée sur papier filtre.

b. Syphilis et pian

b) La **syphilis** et le **pian**, maladies dues aux tréponèmes, peuvent être reconnues après un certain temps d'évolution (quelques semaines ou quelques mois) alors que tout signe extérieur de la maladie peut avoir disparu. On effectue la réaction de Bordet-Wasserman (BW) ou le VDRL (Venereal Diseases Research Laboratory). Ces réactions permettent d'affirmer qu'il y a des anticorps contre le tréponème, mais elles ne font pas la distinction entre syphilis et pian, même très anciens, ce qui enlève beaucoup de leur intérêt. En cas de réaction positive ou de doute, on conseille d'effectuer une cure de pénicilline durant 10 jours au moins (88).

(88) Pour plus de détails voir la brochure illustrée n° 10, éditée à Kangu.

c. Tuberculose

c) Les réactions immunologiques les plus intéressantes concernent la **tuberculose**. On peut mettre en évidence la présence d'une défense antituberculeuse en introduisant dans le derme une petite quantité d'extraits de BK tués ("tuberculine"), ou même de BK vivants mais atténués, tels qu'on les trouve dans le vaccin BCG (89). Ces "intra-dermo-réactions" montrent l'"allergie" tuberculique après 3 à 5 jours mais doivent être interprétées (voir ci-dessous).

(89) Voir la brochure illustrée n° 23, éditée à Kangu.

Technique des intra-dermo réactions

- On utilise de préférence la tuberculine "lyophilisée", qu'on reconstitue au moment de l'emploi à l'aide d'un millilitre d'eau distillée (90), ou la solution de BCG, également reconstituée et diluée au millième.

(90) Une fois mises en solution, certaines tuberculines ne se conservent que quelques heures, et ne peuvent donc servir que pour une seule séance.

- La solution de tuberculine contient 10 unités internationales pour 0,1 ml.

- On utilise une seringue spéciale, graduée en centièmes de millilitres, et munie d'une aiguille spéciale pour injection intradermique (courte - 1 cm -, fine -

5/10 - et à biseau court).

- L'injection est faite à la face antérieure de l'avant-bras (droit de préférence, le gauche étant destiné au vaccin BCG non dilué).
- On introduit l'aiguille presque parallèlement à la peau, de sorte que le biseau seul soit enfoncé dans la peau.
- On injecte alors 0,1 ml, ce qui doit produire aussitôt une petite papule gaufrée (oedème en "peau d'orange") et douloureuse.
- Si cela ne se produit pas, l'injection a été faite en dehors du derme et il faut la recommencer à côté.

Résultats: en cas de réaction positive, un nodule (petite induration de la peau) se produit endéans les 3 à 5 jours qui suivent l'injection; ce nodule doit mesurer au moins 5 mm de diamètre, sinon la réaction est considérée comme négative. La réaction peut être très intense et donner des papules de plus grand diamètre, parfois vésiculeuses ou nécrotiques, notées de $+$ (5 mm) à $++++$ (20 mm).

Commentaires

Les réactions positives doivent être interprétées en fonction de l'examen clinique et de l'anamnèse de la personne: il peut s'agir d'un cas de tuberculose en activité, ou d'un cas de tuberculose stabilisée et devenue inactive (ancienne primo-infection, par exemple), ou encore d'une personne vaccinée. Dans tous ces cas on peut trouver des réactions positives (91).

(91) Pour plus de détails, voir la brochure "Tuberculose", ainsi que la brochure illustrée n° 9 "La tuberculose aujourd'hui!", éditées à Kangu.

d. Test de grossesse

d) Un autre type de réaction basée en partie sur l'immunologie est le **test de grossesse** du type Pregnosticon*. Le **principe** en est le suivant (voir schéma):

- La femme enceinte élimine dans son urine une hormone, la gonadotrophine chorionique humaine (HCG). Si cette hormone est injectée à des lapins, ceux-ci fabriquent des anticorps contre elle. Ces anticorps peuvent donc se fixer sur l'hormone.
- D'autre part, on peut aussi fixer l'hormone (HCG) sur des particules de latex (voir schéma).
- Si nous mélangeons l'antisérum (anticorps) avec la solution de latex enrobé d'HCG, il se produira une agglutination par fixation de l'antisérum sur l'hormone enrobant le latex.
- Prenons maintenant l'urine d'une femme, mélangeons-y l'antisérum, puis le latex enrobe d'hormone; que peut-il arriver?

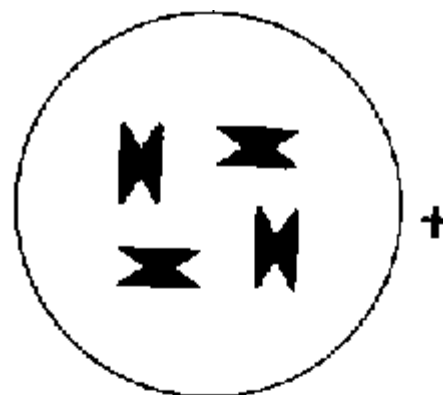
* **si la femme n'est pas enceinte**, il y aura **agglutination**, car il n'y a pas d'hormone HGG dans l'urine de cette femme, donc l'antisérum reste libre et se fixera sur l'HGG enrobant le latex;

* **si la femme est enceinte**, il n'y aura **pas d'agglutination**, car l'hormone HCG présente dans l'urine a fixé l'antisérum; celui-ci n'est donc plus libre pour agglutiner le latex; et le latex enrobé d'hormone restera en suspension (anticorps déjà fixé sur l'hormone HCG de l'urine, donc pas d'agglutination).

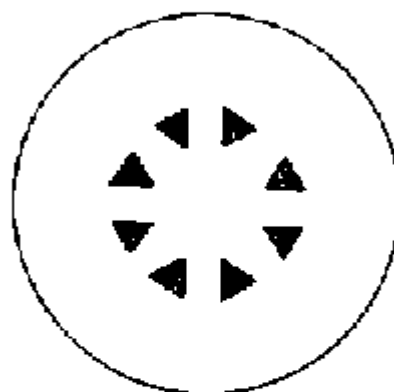
Méthode (avec le Pregnosticon Planotest*)

- Sur la lame spéciale, déposer une goutte d'anti-sérum (avec les anticorps) à l'intérieur du cercle blanc; y ajouter une goutte d'urine au moyen d'un compte-gouttes différent.
- Mélanger avec une petite spatule en plastique.
- Agiter la suspension de latex et ajouter une goutte au mélange sur la lame de verre.
- Mélanger encore avec la spatule et étaler le mélange sur toute la surface à l'intérieur du cercle.
- Remuer doucement la lame pendant deux minutes, afin de déplacer lentement le liquide.
- Résultat:
 - pas d'agglutination = grossesse probable à 97%,
 - agglutination = pas de grossesse.

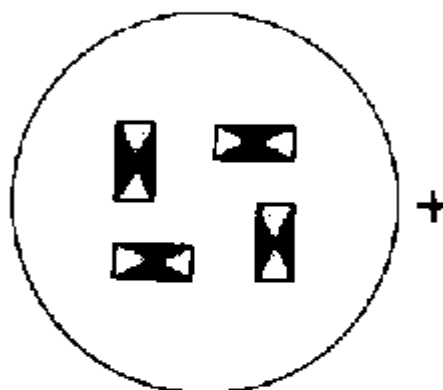
**La femme
est
enceinte**



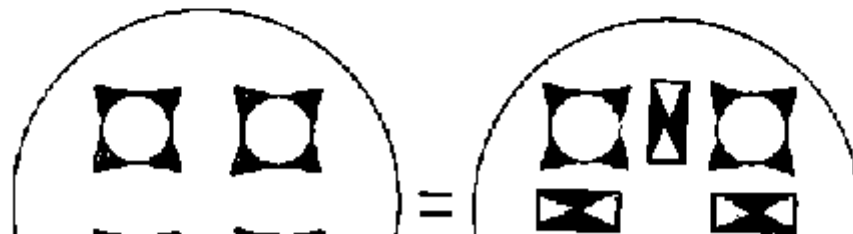
Antisérum



Urine
+ HCG

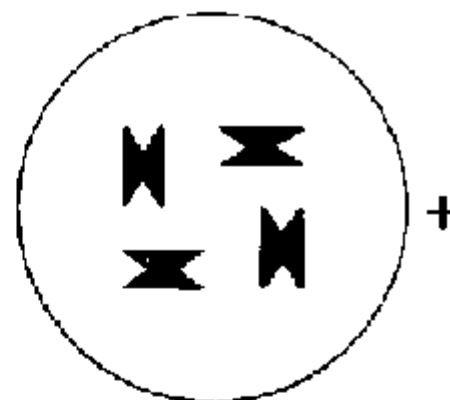


Antisérum
neutralisé

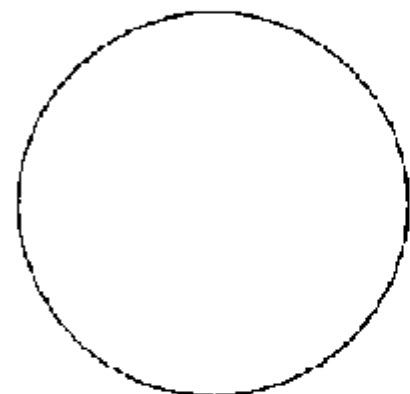


La femme est enceinte

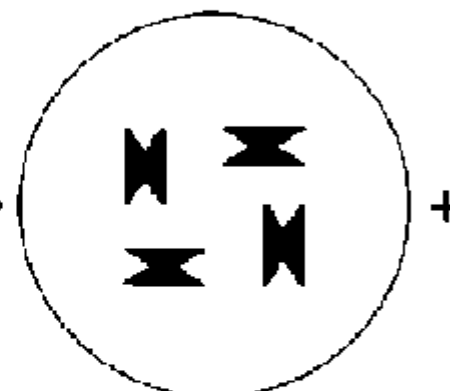
La femme
n'est pas
enceinte



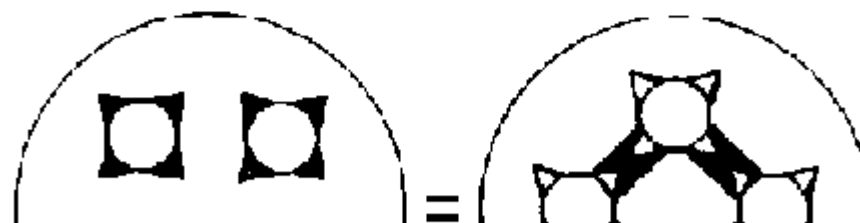
Antisérum



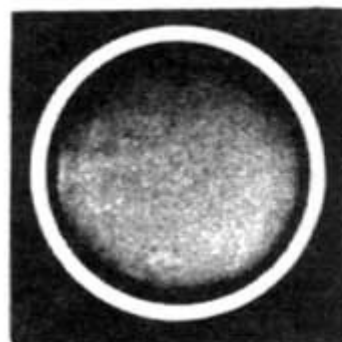
Urine
sans HCG



Antisérum non
neutralisé

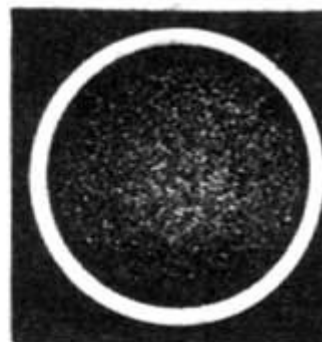


La femme n'est pas enceinte



+

**pas d'agglutination
résultat positif
grossesse**



-

**agglutination
résultat négatif
pas de grossesse**

La lecture du résultat

Précautions

- Le test ne devient positif que 10 jours après l'absence des règles, soit environ 40 jours au moins après les dernières règles.
- La lame doit être d'une très grande propreté (mais ni savon ni détergent!) et les urines filtrées, sans protéines, ni bactéries.
- Un test négatif devrait être à nouveau contrôlé après une semaine.
- Il faut éviter d'exposer le test en cours au soleil, à la chaleur et aux courants d'air, mais il faut cependant une bonne lumière.

e. VIH et sida

e) On peut diagnostiquer la présence du VIH (virus du sida) dans l'organisme par la mise en évidence des anticorps anti VIH dans le sang. Il existe pour cela différents tests (Elisa, Hivchek, Testpack, Seroria).

Méthode pour l'exécution du Hivchek de Dupont*

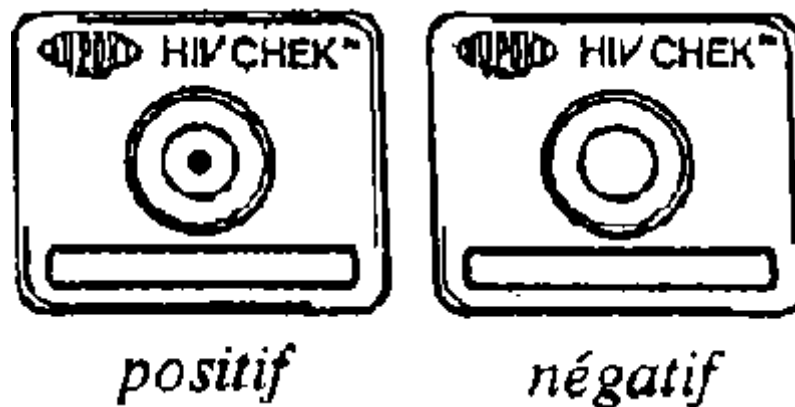
(*) Voir "Guide pratique de la transfusion" de Nyst, Ilunga, Rauhaus, Nseka, Kinshasa 1992.

1. Remise en solution des réactifs

- Ajoutez 1 ml de solution de lavage dans chacun des flacons (positif, faiblement positif et négatif)
- Videz une ampoule de diluant pour tampon dans un flacon de tampon lyophilisé
- Ajoutez 1 ml de solution de lavage dans le réactif protéine-sel d'or lyophilisé

2. Exécution du Hivchek

- Mettez 3 gt de tampon (Buffer) et laissez absorber
- Ajoutez 1 gt du sérum à tester et laissez absorber
- Ajoutez 2 gt de tampon et laissez absorber
- Ajoutez 2 gt de sol de lavage et laissez absorber
- Ajoutez 2 gt du "gold reagent" et laissez absorber
- Ajoutez 3 gt de sol de lavage et laissez absorber



3. Résultats

4. Remarques

- Un test positif sera toujours confirmé par des examens plus précis, avant d'en informer la personne.
- Ces tests sont surtout importants pour la sélection des donneurs de sang avant une transfusion. Si ce test n'est pas possible au centre de santé, la transfusion ne sera pratiquée qu'en cas d'extrême nécessité (pour sauver une vie) et en prélevant le sang dans la toute proche famille (mère pour son enfant, conjoint...)
- Pour faire le diagnostique du sida-maladie, on devra encore souvent se contenter de l'examen clinique.

Conclusion

Chaque activité de laboratoire, que ce soit au centre de santé ou à l'hôpital, est l'occasion de favoriser la promotion de la santé:

- d'abord par la précision du diagnostic et du traitement qu'apportent les analyses
- ensuite par le concours du laboratoire à la mise en évidence de nombreuses affections importantes en santé publique; l'évolution de ces aspects peut souvent être suivie par des analyses de qualité;
- enfin par la participation à tous les efforts d'éducation des malades et de leur famille, à chaque contact avec le laboratoire.

Laboratoire et santé sont donc reliés par plusieurs aspects, et les activités qu'on y mène méritent une attention particulière.

Annexes

I. Le microscope et son usage (92)

(92) Extrait de Goarnisson - Guide médical africain - 7e édition.

1. Définition

Le microscope est un instrument d'optique qui, grâce à des lentilles grossissantes, permet de voir des objets invisibles à l'oeil nu.

2. Description

Il se compose d'un statif et d'une partie optique.

1) **Le statif**: c'est la partie mécanique qui sert de support aux pièces optiques; il comprend:

a) **Le pied**, en forme de fer à cheval, ou simplement rond, assez lourd pour assurer la stabilité du microscope.

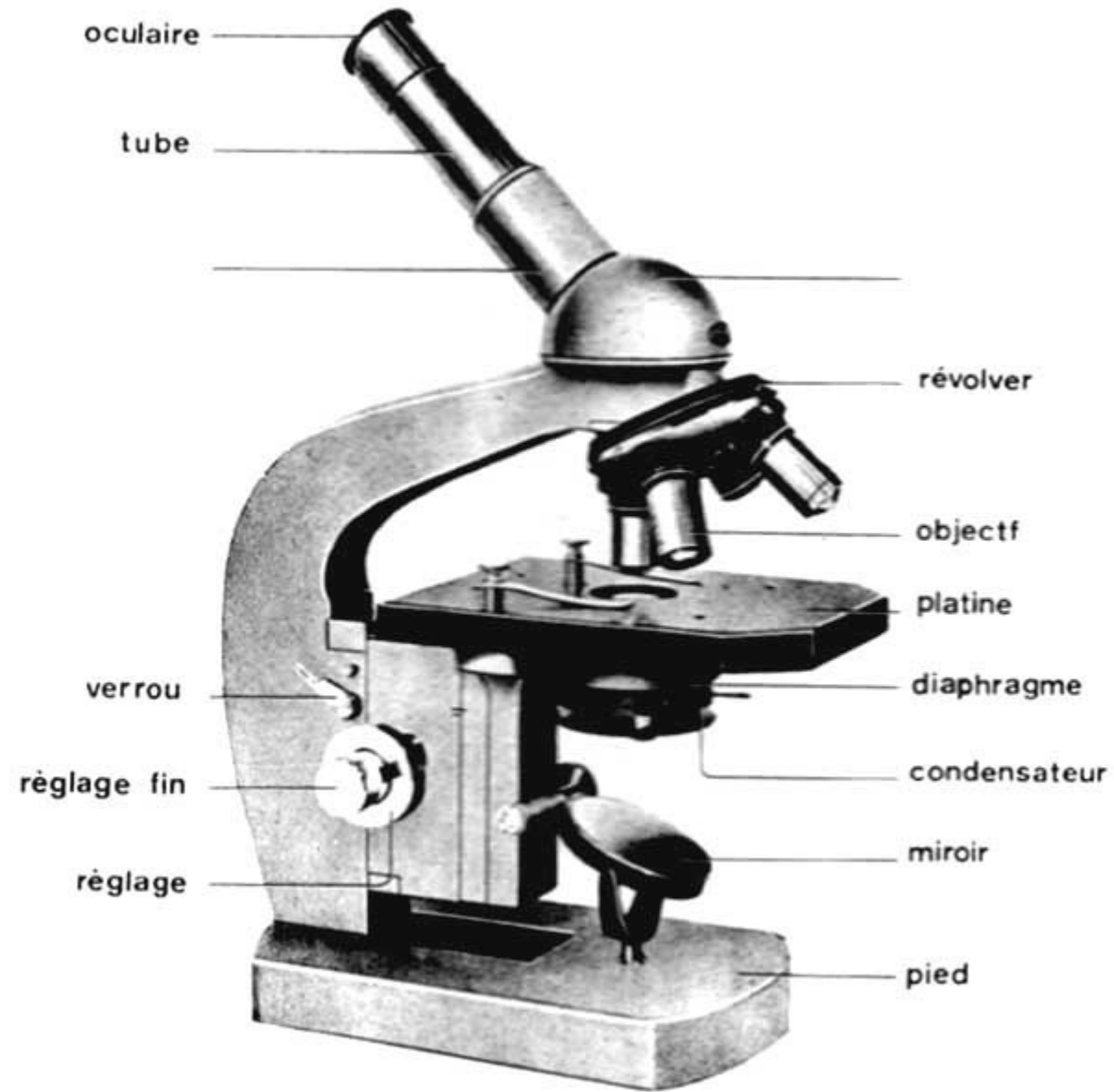
b) **La potence** à poignée, sorte de colonne incurvée qui supporte la platine et le tube; elle est souvent reliée au pied par une charnière d'inclinaison.

c) **La platine**, qui est ronde ou carrée; elle porte deux pinces pour fixer la préparation, ou bien un chariot qu'on manoeuvre à l'aide de deux boutons de commande, l'un pour les mouvements antéro-postérieurs, l'autre pour les mouvements latéraux.

d) **Le tube**, avec un double dispositif: l'un, pour les mouvements rapides, se compose d'une crémaillère avec pignon actionné par deux grandes vis; l'autre, pour les mouvements de faible amplitude, possède une vis micrométrique avec ses deux petits boutons de manoeuvre.

La partie supérieure du tube contient parfois un tube à tirage, gradué, de calibre plus petit, qu'on "tire" jusqu'à 160 mm, pour compléter la correction des objectifs à immersion. C'est dans l'ouverture supérieure de ce tube qu'on place l'oculaire.

La partie inférieure du tube possède un revolver sur lequel sont vissés les objectifs; de la sorte, ces derniers sont rapidement changés par un simple mouvement de rotation.



Microscope

2) **La partie optique:** elle comprend les parties essentielles du microscope.

a) Les oculaires, ainsi appelés parce qu'ils sont placés à l'extrémité supérieure du tube, à l'endroit où l'oeil s'applique. Ils sont d'habitude deux avec un grossissement de 6 fois et de 10 fois. La multiplication de ce nombre par le coefficient de grossissement de l'objectif nous donne le grossissement total du microscope.

Par exemple, l'oculaire 6 et l'objectif 100 nous donnera une image agrandie 600 fois.

b) **Les objectifs** tirent leur nom de l'"objet" auprès duquel ils se trouvent; ils sont de deux sortes:

- **Les deux objectifs à sec**, avec un grossissement de 10 fois et de 40 fois. Ils sont utilisés pour les examens des objets à l'état frais, placés entre lame et lamelle.

- **L'objectif à immersion**, avec un grossissement de 100 fois. Il est utilisé pour les examens de lames colorées sur lesquelles on dépose une goutte d'huile de cèdre dans laquelle on plonge l'extrémité de l'objectif.

c) **L'appareil d'éclairage** se compose d'une source lumineuse, d'un miroir, d'un diaphragme et d'un condensateur.

- **La source lumineuse** peut être soit la lumière du jour, et, dans ce cas, on se placera devant une fenêtre bien éclairée, soit la lumière artificielle; cette dernière est plus intéressante pour les forts grossissements, qui exigent une lumière plus puissante.

- **Les miroirs**, l'un plan, l'autre concave, sont fixés sur un pivot qui facilite leur changement rapide ou leur inclinaison vers la source lumineuse. Le miroir concave est employé avec l'objectif à immersion, le miroir plan est utilisé avec les objectifs à sec et sans condensateur.

- **Le diaphragme-iris** est formé de lamelles métalliques, qu'on ouvre ou ferme à l'aide d'une petite tige. Il a pour but, en réglant les dimensions du cône lumineux fourni par le miroir, de donner aux contours des objets le maximum de netteté: il est indispensable pour les examens à l'état frais et d'autant plus que l'objet est plus transparent. Même pour les préparations colorées avec un objectif très fort, il est souvent utile de diaphragmer un peu.

- **Le condensateur** agrandit la section du cône éclairant et condense les rayons. Sa mise au point se fait à l'aide d'une vis qui règle ses mouvements dans le sens vertical. Son emploi est de règle avec les objectifs à immersion, mais on le descend quand on utilise les objectifs à sec.

3. Préparation

La préparation du microscope diffère suivant la variété d'examen à pratiquer. Les examens sont habituellement de deux types.

A. Examen à l'état frais, de suc ganglionnaire, de sang, de selles, d'urines, etc.;

B. Examen après coloration de frottis de sang, de crachats, de pus, etc.

Tableau schématique montrant les différentes manoeuvres à effectuer, suivant que l'on recherche le trypanosome dans du suc ganglionnaire ou dans un frottis de sang coloré

Objet	Examen à l'état frais	Examen après coloration
Préparation	déposer du suc ganglionnaire sur une lame	colorer un frottis de sang sur une lame
Lamelle	recouvrir d'une lamelle couvre-objet	pas de lamelle, mais une goutte d'huile de cèdre
Objectif	Objectif à sec (40 X)	Objectif à immersion (100 X)
Condensateur	descendu	en place
Diaphragme	diaphragmer	ne pas diaphragmer, ou très légèrement
Miroir	plan	concave
Oculaire	6 X	10 X

4. Mise au point

La mise au point est le réglage précis du microscope, de façon à voir les objets avec le maximum de netteté. Pour ne rien laisser au hasard, il est bon de s'habituer à une bonne technique, en faisant la mise au point en deux temps: la première mise au point est approximative, la seconde est exacte.

1) **Mise au point approximative**: les manoeuvres se font dans l'ordre suivant et sans regarder à travers l'oculaire:

- a) on place la lame sur la platine en ayant soin d'amener au milieu la partie à examiner;
- b) on incline le miroir à peu près vers la source lumineuse;
- c) on ouvre tout grand le diaphragme;
- d) le condensateur est remonté au contact de la lame (pour une lame colorée);
- e) on descend l'objectif au contact de la lame: cette manoeuvre doit se faire sans regarder à travers l'oculaire, mais en inclinant fortement la tête sur le côté pour regarder directement la préparation. Ce détail est important, car en procédant ainsi on évitera de briser la lame et peut-

être la lentille de l'objectif;

f) à partir de ce moment, on regarde à travers l'oculaire, pendant qu'une main, sur la vis de la crémaillère, fait remonter doucement l'objectif: on s'arrête lorsque la préparation commence à apparaître. Si l'on doit recommencer, on s'incline de nouveau latéralement pour regarder directement la préparation.

2) **Mise au point précise:** tout en continuant à regarder à travers l'oculaire, on saisit le bouton de la vis micrométrique et, par de petits mouvements de va-et-vient, on règle la mise au point. L'on ne s'arrête que quand l'image est très nette. Ensuite, il est utile, pendant qu'on regarde à travers l'oculaire, de régler plus exactement l'inclinaison du miroir, l'ouverture du diaphragme et la mise au point du condensateur, afin d'obtenir le maximum de netteté. Dès que la mise au point est terminée, il ne reste plus qu'à parcourir la préparation: une main actionne les boutons du chariot et déplace la lame, pendant que l'autre main, saisissant le bouton de la vis micrométrique, imprime à celle-ci de tout petits mouvements pour rectifier la mise au point après chaque déplacement de la préparation.

5. Mensuration des objets microscopiques

L'unité de mesure pour la mensuration des microbes est le millième de millimètre (micron), qu'on exprime par la lettre grecque μ "mu". Un procédé simple consiste à comparer les dimensions des microbes chaque fois que la chose est possible, avec le diamètre d'un globule rouge, mesure 7μ .

6. Choix des objectifs

Voici quelques principes qui peuvent aider ce choix:

1) Plus l'objectif est fort, plus sa lentille terminale est petite.

2) Plus l'objectif est fort, plus l'image diminue d'étendue. En conséquence, c'est l'objectif le plus faible qui voit l'image la plus large: l'objectif faible est donc indiqué pour avoir une "vue générale" de la préparation et pour repérer l'endroit le plus apte pour un examen détaillé par les objectifs forts.

3) Plus l'objectif est fort, plus son foyer est court, et plus il doit être rapproché de la lame pour sa mise au point. En conséquence lorsque la préparation est épaisse et profonde, comme c'est le cas avec la cellule de Nageotte, il faut utiliser un objectif moyen (40 x) dont le foyer est assez éloigné, pour ne pas briser la lamelle en faisant la mise au point. On compensera la faiblesse de l'objectif par l'emploi d'un oculaire fort, 10 x par exemple.

4) L'objectif faible suffit pour trouver les microfilaires du sang, les œufs de bilharzies dans les urines, les oeufs d'helminthes dans les selles.

5) L'objectif moyen peut suffire pour la recherche du trypanosome à l'état frais, pour les amibes et les flagellés intestinaux, dont on peut voir

ainsi les caractères distinctifs.

6) L'objectif fort sert pour l'étude des colorations microbiennes ou pour les frottis de sang, pour la recherche de trypanosome ou de plasmodium, ou encore pour faire une formule leucocytaire. C'est **un objectif à immersion**.

7. Entretien du microscope

Le microscope est un instrument de précision, extrêmement précieux; il faut donc veiller avec soin à son entretien. Voici quelques indications à ce sujet:

1) Règles générales: les pièces les plus fragiles du microscope sont les lentilles, les miroirs et la vis micrométrique. On évitera de toucher les surfaces en verre avec les doigts; on effectuera leur manoeuvre en saisissant uniquement leur garniture métallique. Pour les essuyer, on ne se servira jamais d'étoffe rugueuse, mais d'une compresse fine ou d'une peau de chamois. La vis micrométrique est très fragile; c'est la pièce que les débutants détériorent le plus souvent. Pour l'éviter, retenons qu'il faut s'arrêter dès qu'on perçoit une certaine résistance, c'est le signe que le pas de vis est à bout de course. En voulant continuer le mouvement, on s'expose à forcer le pas de vis, accident qui ne peut être réparé que par un spécialiste.

2) Les objectifs à sec sont essuyés à l'aide d'une compresse ou d'une peau de chamois. L'objectif à immersion doit être essuyé aussitôt après usage. Quand l'huile de cèdre adhère fortement, enlever l'excès d'huile de cèdre avec une compresse légèrement imbibée de xylol (par exemple, une fois par semaine).

Eviter la pénétration de xylol entre la monture et la lentille de l'objectif. Le xylol peut dissoudre le baume qui relie entre eux les verres de la lentille. On ne doit pas se servir d'alcool, qui ne dissout pas l'huile de cèdre.

3) Les oculaires: un oculaire sera toujours laissé à demeure dans la partie supérieure du tube afin d'empêcher la pénétration des poussières. On essuie les oculaires en se servant d'une compresse sèche.

4) Le miroir: ordinairement le simple essuyage à la compresse suffit. Cependant, si le miroir était souillé de taches très adhérentes, on pourrait utiliser une compresse imbibée de xylol ou de toluène.

5) Le nettoyage du condensateur se fait comme celui des objectifs.

6) Autres précautions: après usage, le microscope doit être remis dans sa boîte ou recouvert d'une cloche de plastique, pour le mettre à l'abri des poussières.

Dans les régions humides, l'utilisation d'une housse en plastique pour couvrir le microscope favorise la formation des moisissures et doit donc être abandonnée.

Pour éviter que les champignons se développent sur les parties optiques, on conseille de toujours ranger le microscope dans une armoire chauffante dans laquelle on aura installé une ampoule électrique, pour en enlever l'humidité ou éventuellement dans une chambre munie d'un conditionnement d'air.

Pour le voyage, il faut bien immobiliser le microscope dans sa boîte, à l'aide des vis fixatrices, et le protéger contre les chocs à l'aide de coussinets.

De temps en temps, environ tous les trois mois, il est nécessaire de lubrifier les engrenages et les vis du chariot, de la crémaillère, du pignon de la crémaillère ainsi que les charnières.

II. Abréviations utilisées

BCG	bacille de Calmette-Guérin
BH	bacille de Hansen
BK	bacille de Koch
BW	réaction de Bordet Wasserman
CHGR	concentration en hémoglobine des globules rouges
FL	formule leucocytaire
GB	globule blanc, leucocyte
GE	goutte épaisse
GR	globule rouge, érythrocyte
G6PD	carence en glucose-6-phosphate-déshydrogenase
Hb	hémoglobine
IC	index de coloration des globules rouges
LCR	liquide céphalo-rachidien
N/10	décinormal
PS	plaquettes sanguines
Rh	Rhésus
SC	sickle cell anémie - drépanocytose
SCA	sickle cell anémie (homozygote)

SCT	sickle cell anémie (hétérozygote)
VDRL	venereal diseases research laboratory
VS	vitesse de sédimentation

Références

- DELVILLE J. - **Microbiologie de la lèpre - Comportement et affinités tinctoriales du bacille de Hansen dans les lésions lépreuses** - in Ann. Soc. B. Méd. Trop. - 1974, n° 6 - pp. 457-462.
- GOARNISSON - **Guide médical africain** - 7e édition - Ed. St-Paul - Issy les Moulineaux - France - 1970.
- GOARNISSON - BLANC - OMS - **Manuel de l'équipe de santé** - 1re édition 1979, Ed. Saint Paul, Issy les Moulineaux.
- LANGUILLAT G. et LARIVIERE M. - **Techniques de base pour le diagnostic d'affections parasitaires en zone d'endémie** - in L'Enfant en milieu tropical - 1974 - n° 94 - pp. 3-32.
- LEVY-LAMBERT E. - **Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical** - OMS - 1982.
- MASURE R. - **Contrôle préparatoire de l'hémostase** - in Louvain Méd. - 1967 - n° 86 - pp. 37-41.
- SONNET J. - **Syllabus des techniques usuelles de laboratoire médical** - Coll. Extension Universitaire - UNAZA - Campus de Kinshasa - 1964.

**Les éditions du Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé
B.P. 1800 Kangu - Mayombe (B.Z.) - République du Zaïre**

1. Manuels pour Infirmiers et enseignants



Nourriture saine, santé meilleure (Cours de diététique)



Statistique et santé

-
- Santé personnelle et communautaire**
- Notions de pharmacologie**
- Comment aider par un contact authentique** (manuel de psychiatrie clinique)
- Santé meilleure, source de progrès** (Cours d'éducation sanitaire)
- Maternité et Santé** (Nouons d'obstétrique)
- L'enfant et la santé** (Notions de pédiatrie)
- L'écolier et la santé**
- La mère, l'enfant et la santé** (Manuel de santé maternelle et infantile)
- Le chemin de la santé** (David Morley et Marc Parent)
- Lutte contre la malnutrition** (J. R. Brown)
- L'amour, le sexe! Qu'en penses-tu?** (Anne Cailloux)
- Infirmier, comment bâtir la santé?** (Manuel de santé communautaire)

-
- Infirmier, comment traiter votre malade?**
- Aide-mémoire pour le dispensaire** (Les médicaments courants)
- Lexique médical** (Le vocabulaire médical à la portée de tous)
- Dictionnaire médical pour les régions tropicales**
- Problèmes de pharmacologie et d'éducation sanitaire**
- Laboratoire et Santé** (Techniques de laboratoire)
- Urgences médicales pour Médecins** (Dr M. De Clerck)
- La poliomyélite** (un guide simple) R. L. Huckstep
- Les vers intestinaux** (Brochure)
- La malaria - Le paludisme** (Brochure)
- La nutrition** (Brochure)
- La tuberculose** (Brochure)

L'alcoolisme (Brochure)

Les handicapés (Brochure)

La pisciculture familiale (Brochure)

La maladie du sommeil (Brochure)

L'apiculture (élevage d'abeilles) (Brochure)

L'aménagement des sources (hydraulique rurale) (Brochure)

Santé et Maladie - Tome I - Notre corps

Santé et Maladie - Tome II - Le milieu où nous vivons

Santé et Maladie - Tome III - Les maladies tropicales

2. Matériel pour la promotion de la santé destiné aux infirmiers et aux enseignants

Série d'images "**Vers intestinaux**" (format 21 x 30 cm)

Série d'images "**Paludisme - Malaria**" (format 21 x 30 cm)

-
- Série d'images "**Tuberculose**" (format 21 x 30 cm)
-
- Série d'images "**Alcoolisme**" (format 21 x 30 cm)
-
- Boîte à images "**Vers Intestinaux**" (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Paludisme - Malaria**" (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Nutrition**" (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Tuberculose**" - éd. complète (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Tuberculose**" - éd. abrégée (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Alcoolisme**" (format 43 x 71 cm)
-
- Boîte à images "**Les handicapés**" (format 30 x 43 cm)
-
- Boîte à images "**Pisciculture familiale**" (format 30 x 43 cm)
-
- Boîte à images "**Maladie du sommeil**"
-
- Boîte à images "**Apiculture**" (élevage d'abeilles)

-
- Boîte à images "**Aménagement des sources**" (hydraulique rurale)
- Boîte à images "**Pompe**" (hydraulique rurale)
- Boîte à images "**Adduction par gravité**" (hydraulique rurale)
- Flanellographe "**Nutrition**" (avec tableau de feutre)
- Affiches éducatives**, la série de 30 (format 43 x 71 cm)
- Affichettes éducatives**, la série de 34 (format 21 x 30 cm)
- Examen microscopique des selles** (planche illustrée)
- Fiche de consultation PMI** avec pochette en plastique. Le 100.
- Fiche de traitement pour dispensaire**. Le 100.

3. Série de 34 brochures Illustrées sur les thèmes suivants:

A. Orientation nouvelle de l'action médicale

N. 1 **L'hôpital rural** (Pour une orientation nouvelle des hôpitaux vers le progrès de la santé)

N. 24 **Le dispensaire et sa nouvelle orientation** (Les responsabilités du technicien de la santé)

N. 3 **Vers un éclairage nouveau de quelques problèmes de santé** (L'attitude des techniciens de la santé en face de leurs nouvelles responsabilités)

- N. 17 **Santé et Tradition** (Proverbes et coutumes relatifs à la santé)
- N. 2 **Le Centre pour la promotion de la santé** (Expérience pratique de Kangu)
- N. 12 **L'éducation sanitaire** (Quelques principes de base)
- N. 27 **L'éducateur sanitaire** (L'enseignant ou l'infirmier peut-il devenir un éducateur sanitaire?)
- N. 28 **L'infirmier et la santé publique** (Prophylaxie et lutte contre les maladies sociales)
- N. 30 **L'infirmier face au malade** (Comment favoriser la guérison par un contact authentique?)
- N. 33 **Comment aider la personne découragée?** (Comment comprendre et aider ceux qui ont des difficultés personnelles?)

B. Protection maternelle et infantile

- N. 18 **Pour que mon bébé naisse en bonne santé** (Les consultations prénatales)
- N. 11 **La Jeunesse et les problèmes des naissances désirables** (Les attitudes de la jeunesse en face de la sexualité)
- N. 31 **La maternité et la promotion de la santé**
- N. 14 **La santé de vos enfants!** (Comment protéger la santé des enfants depuis la naissance jusqu'à leur entrée en école?)
- N. 26 **Pourquoi vacciner vos enfants?** (Le rôle des vaccins dans la défense contre les maladies)
- N. 7 **L'éducation nutritionnelle** (Quelques principes de base)
- N. 32 **L'éducateur nutritionnel** (Comment améliorer l'alimentation des enfants par l'éducation?)
- N. 8 **La malnutrition de l'enfant et ses conséquences**
- N. 15 **Les médicaments à la maison** (La pharmacie familiale et son usage)

C. Protection et éducation de la jeunesse

- N. **La médecine à l'école** (Comment améliorer les contacts entre les écoles et les dispensaires)
4
- N. **L'éducation de la santé à l'école** (Expérience pratique de Kangu-Mayombe)
5
- N. **Les vers Intestinaux à l'école** (Prise de conscience du problème par la jeunesse)
6
- N. **Le sang et l'anémie - Qu'est-ce que l'anémie SS?** (Le sang et les maladies qui peuvent l'abîmer)
19
- N. **Le don du sang** (Le don du sang et la transfusion sanguine)

13

N. **Pour une authentique éducation sexuelle** (Les problèmes que la sexualité pose aux jeunes)

25

N. **La jeunesse et les maladies vénériennes** (La blennorragie et la syphilis)

10

N. **Le sida est là! Que faire?**

34

N. **On ne trouve rien au dispensaire... et pourtant que suis malade!** (Quelle est l'origine des palpitations, des maux de tête, de certaines difficultés sexuelles, de certains échecs scolaires... Quelques informations sur les maladies psychosomatiques)

D. Protection de la santé

N. 21 **Comment bien se nourrir?** (Quels sont les meilleurs aliments?)N. 22 **Les médicaments, l'alcool et le tabac sont-ils dangereux?** (L'usage des médicaments et leurs abus: la drogue, le tabac, l'alcool...)N. 20 **Peut-on éviter les accidents?** (Les accidents et leur prévention)N. 29 **Ma maison et ma santé** (Une bonne maison peut-elle favoriser la santé de ma famille?)N. 9 **La tuberculose aujourd'hui!** (Conception récente de la lutte contre la tuberculose)N. 23 **La lèpre aujourd'hui!** (Conception récente de la lutte contre la lèpre)

4. Série Théâtre (comédies à caractère médical)

Le testament de Matundu, comédie en 5 actes**Du boniment, toujours du boniment**, comédie en 4 actes

5. Autres éditions

Le livre du diabétique

-
- Traitement du diabète en Afrique**
- 16 questions sur l'hypertension**
- Du bon usage des antibiotiques**
- Du bon usage des antipaludiques**
- Soins aux nouveaux-nés**
- Consultation prénatale et surveillance de la grossesse**
- Désinfection, stérilisation, hygiène**
- Traitement de l'hypertension essentielle en Afrique**
- Développement & Santé (revue) - abonnement 12 mois**
- 6. Diffusion gratuite**
- Guide pratique du Sida pour le corps médical, 112 p.**
- Education à la santé dans la lèpre (guide de l'animateur), 112 p.**

Education de la santé dans la lèpre (manuel de formation du personnel de santé) 112p.

7. Séries de diapositives en couleurs sous cache plastique

Vers Intestinaux	((68 dias + brochure))
Paludisme - Malaria	((62 dias + brochure))
Nutrition	((56 dias + brochure))
Tuberculose	((68 dias + brochure))
Alcoolisme	((41 dias + brochure))
Handicapés	((48 dias + brochure))
Pisciculture familiale	((60 dias + brochure))
Maladie du sommeil	((68 dias + brochure))
Apiculture (élevage des abeilles)	((46 dias + brochure))
Aménagement des sources (hydr. rurale)	((56 dias + brochure))
Pompe (hydraulique rurale)	((46 dias + brochure))
Adduction par gravité (hydraulique rurale)	((47 dias + brochure))

EDITIONS IN ENGLISH

A. Booklets for health educators and school teachers

- * **Finding the cause of child malnutrition (J. R. Brown)**
- * **Alcoholism**
- * **Intestinal worms**

B. Series of pictures (size 21 x 30 cm)

- * **Intestinal worms**
- * **Malaria**
- * **Tuberculosis**
- * **Alcoholism**

C. Flip-chart (size 43 x 71 cm)

- * **Intestinal worms**
- * **Malaria**
- * **Nutrition**
- * **Tuberculosis** (complete edition)
- * **Tuberculosis** (short edition)
- * **Alcoholism**
- * **The handicapped**
- * **Fish culture**
- * **Sleeping sickness**
- * **Bee Keeping**
- * **Capped Springs**
- * **Water pumps**
- * **Water adduction**

D. Series of slides

- * **Intestinal worms** (68 slides)
- * **Malaria** (61 slides)
- * **Nutrition** (65 slides)
- * **Tuberculosis** (69 slides)
- * **Alcoholism** (40 slides)
- * **The handicapped** (47 slides)
- * **Fish culture** (58 slides)
- * **Sleeping sickness** (68 slides)
- * **Bee Keeping** (46 slides)
- * **Capped springs** (56 slides)
- * **Water pumps** (46 slides)
- * **Water adduction** (47 slides)

E. Series of posters

- * **30 posters on education** (size 43 x 71 cm)
- * **34 small posters on education** (size 21 x 30 cm)

EDIÇÕES EM PORTUGÊS



Combate à desnutrição infantil na comunidade (Um guia a nível da comunidade) J. R. Brown



Saúde e Doenças - Tomo I - A Limpeza do nosso corpo



Saúde e Doenças - Tomo II - Nosso corpo no meio on que vivemos



Saúde e Doenças - Tomo III - Lição pratica sobre a saúde e as doenças



O Sangue e a Anemia - Algumas informações sobre a importancia do sangue e as doenças que podem determinar-lo

Série de quadros ilustrados (formato 21 x 30 cm)



Os Vermes Intestinais



A Malaria



Tuberculose



Alcoolismo

Flip-chart (formato 43 x 71 cm)



Os vermes Intestinais



A Malaria



Nutrição



Tuberculose



Alcoolismo



Accomodação das fontes (hydraulica rural)



Pompa (hydraulica rural)



Adução para gravidade (hydraulica rural)



Os paraliticos



Piscicultura



Doença do sono



Apicultura

Série de slides

Os Venues Intestinais	(65 slides)
A Malaria	(61 slides)
Nutrição	(56 slides)
Tuberculose	(69 slides)
Alcoolisme	(40 slides)
Os paraliticos	(47 slides)
Piscicultura	(59 slides)
Doença do sono	(68 slides)
Apicultura	(46 slides)
Accomodação das fontes (hydraulica rural)	(56 slides)
Pompa (hydraulica rural)	(46 slides)
Adução para gravidade (hydraulica rural)	(47 slides)

Les livres, les brochures et le matériel d'éducation sanitaire produits par le Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé, B.P. 1800, Kangu-Mayombe, République du Zaïre, sont en vente aux endroits suivants:

ZAIRE

- **Kangu** - Mayombe - Bureau d'Etudes et de Recherches pour la Promotion de la Santé, B.P. 1800

- Kinshasa

- C.I.A.M. (ex-CEP)
B.P. 724 Limete
- Libr. St Paul
B.P. 8505, Kin 1

- Lubumbashi

- Libr. St Paul, B.P. 2447

- Kisangani

- Libr. St Paul, B.P. 264

- Kananga

- Econ. Archidioc. B.P. 70

- Kindu

- Libr. C.D.P., B.P. 18

- Matadi

- Libr. Evangélique, B.P. 39

- Libr. de la Procure

- Goma

- Libr. des Volcans, B.P. 400

- Bukavu

- BOM, B.P. 162

- Bunia

- Libr. C.D.P., B.P. 19

- Mbuji-Mayi

- Serv. du Livre, B.P. 127

- Kikwit

- BOM, B.P. 256

RWANDA

- Bufmar, B.P. 442 Kigali
- Libr. Caritas, B.P. 1078 Kigali

CENTRAFRIQUE

- Foyer de Charité, B.P. 335 **Bangui** tél. 61.1105

TOGO

- Libr. Bon Pasteur, B.P. 1164 **Lomé**

BENIN

- Libr. Renaissance, B.P. 1268 **Cotonou** tél. 31.26.99

COTE-D'IVOIRE

- Libr. Carrefour, B.P. 8326 **Abidjan**, tél. 44.23.70

SENEGAL

- Clairafrique, B.P. 2005 **Dakar**

MADAGASCAR

- Libr. St Paul, B.P. 667 - 101 **Antananarivo**

BELGIQUE

- Centre de la Promotion de la Santé de Kangu-Mayombe
c/o 53, Avenue Madoux
B-1150 **Bruxelles**

- Libraifac, rue Berckmans

148, 1060 **Bruxelles**,
tél. 02-537.18.70

- ESNAC, rue Brialmont 11,
1030 **Bruxelles**,
tél. 02-217.04.97

- Orbi Pharma, Desjuinplein
232, 2018 **Antwerpen**,
tel. 03-216.39.78

- L. Wouters, Naamsestraat
48, 3000 **Leuven**,
tel. 016-23.34.81

- Eclaireurs Unionistes, 5620
Flavion, tél. 082-68.83.01

FRANCE

- L'Harmattan, 16 rue des Ecoles,
75005 **Paris**, tél. 326.04.52
Métro: Maubert Mutualité/Cardinal Lemoine.
Du lundi au samedi: 10h-12h30 et 13h15-19h.

- Centre d'Information Missionnaire,
30 rue Lhomond, 75005
Paris, tél. (1)707.49.09

SUISSE

- Ed. du Soc, Cèdres, 5 C.P.
305, 1004 **Lausanne**,
tél. 021-37.34.21

HOLLANDE

- S.J. Van Hoogstraten,
98 Noordeinde, 2514 C.M.
Den Haag

- Tool, Entrepôtdok 68a/69a,
1018 AD **Amsterdam**

ALLEMAGNE

- S. Töche-Mittler Gmbh,
Hindenburgstr. 33,
6100 **Darmstadt**,
tel. 061.51-3.36.65

CANADA

- Libr. "Pareil à Paris",
148 Wellington Nord,
Sherbrooke, P.Q. Canada,
J1H 5C5

→ *Catalogue complet gratuit sur demande.*

→ *Toutes les commandes en dehors du Zaïre peuvent être adressées au:*

Centre de la Promotion de la Santé de Kangu-Mayombe
c/o 53, Avenue Madoux **B - 1150 Bruxelles (Belgique)**

Imprimerie Saint Paul - Limete-Kinshasa
Imprimé au Zaïre - Printed in Zaïre

Mieux soigner les malades grâce à un diagnostic plus précis...

Promouvoir plus efficacement la santé grâce à une politique mieux adaptée aux priorités du milieu...

Encourager la population à adopter de meilleures habitudes de santé grâce à des exemples concrets venus du laboratoire...

Ce vaste programme sanitaire, *Laboratoire et santé* aide à le réaliser. La brochure, qui décrit clairement les examens et les techniques du laboratoire, représente pour les infirmiers un guide pratique et outil de travail quotidien qui les aidera à mieux bâtir la santé.

[Version texte](#)