

Ministère de l'Enseignement
Supérieur République du
Mali
et de la Recherche Scientifique
Un Peuple – Un But – Une Foi



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS)

Année Universitaire : 2010/2011

N°...../

TITRE

**CONTRIBUTION À L'ASSURANCE QUALITÉ DANS LE DIAGNOSTIC
DE LA TUBERCULOSE AU CENTRE DE SANTE DE RÉFÉRENCE
DE LA COMMUNE IV**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le / / devant
la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

(F.M.P.O.S.)

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Par

TÉKÉTÉ Sory Ibrahim

JURY

**Président
Membres**

**Pr Sounkalo DAO
Dr Moustapha TOURÉ**

**Co- directeur de thèse
Directeur de thèse**

**Dr Seydou Soumaïla DIARRA
Pr Souleymane DIALLO
Pr Flabou BOUGOUDOGO**

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

-A DIEU le Tout Puissant, le très Miséricordieux, de m'avoir donné la chance, la santé, le courage de mener à bien ce travail.

Que sa bénédiction et sa protection soient sur tous.

AMEN !

A son prophète MOHAMED paix et salut à son âme.

AMEN !

Aux fidèles de l'ISLAM.

-A mon père Amadou Bocar TÉGUÉTÉ

Tu nous as montré le chemin du travail et du courage, ta rigueur dans l'éducation a toujours guidé nos pas, ta sagesse, tes critiques et ta culture d'une famille unit resterons à jamais dans notre mémoire. Ton amour particulier pour nous m'a illuminé le chemin du savoir.

Puisse ALLAH le Tout Puissant te garde encore longtemps au près de nous pour que tu puisses profiter des fruits de nos efforts.

Trouve à ce modeste travail un début de récompense à tes nombreux sacrifices. Je suis sûr que tes vœux seront exhaussés par le Tout Puissant et que tes conseils ne seront pas vains.

-A mère Korotoumou TOURÉ

Cher mère ce modeste travail est le témoignage de ma promesse faite depuis le début de cette étude pharmaceutique.

Mère merci pour ton amour maternel qu'une mère a de mieux pour son enfant.

Puisse DIEU te garder auprès de nous pendant longtemps afin de profiter de ces beaux fruits qu'il t'a destinés.

-A ma tante Nandy MBODGE

Cert la mère qui donne naissance n'est pas la seule à aimer son enfant.

Ma tante les mots me manquent pour essuyer tes larmes. Mais je souhaite que tu trouves dans ce travail de quoi se consoler.

Voici le fruit de tes bénédictions et de tes conseils. Trouve dans ce travail l'expression de toute ma gratitude. Que DIEU te garde longtemps auprès de nous.

REMERCIEMENTS

Je remercie le bon DIEU de m'avoir donné la force, le courage, la chance et la santé de mener à bien ce travail.

Que sa paix soit sur ses prophètes. Et que l'islam triomphe sur toute la terre.

Paix et salue sur le prophète MOHAMED.

AMEN !

-A mes parents

Je ne cesserai jamais de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour nous.

-A mes frères, sœurs, cousins et cousines

Du plus grand au plus petit, merci pour vos soutiens. Ce travail est également le votre.

-A mes proches qui sont morts.

-A mes tantes et oncles

Merci pour vos encouragements vos soutiens.

-A docteur TIRERA Balkissa BORÉ et a tout le personnel de la PROSPERITE

-A mes camarades de promotion de la FMPOS «promotion Moussa HARAMA »

-A mes camarades du laboratoire du centre de santé de référence.

Vous avez été très nombreux à m'encourager, me féliciter, me conseiller et me guider partout où je suis passé. Merci pour vos soutiens.

-A mes amis les plus chers

Comme on a l'habitude de le dire « C'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît ses vrais amis » moi je vous ai reconnu car vous étiez toujours là pour me soutenir pendant les moments difficiles.

Je vous dis aussi « L'amitié est comme l'écriture sur le sable quand on cesse de la retracer, elle disparaît ».

Sachez qu'en aucun instant je n'ai regretté de votre compagnie. Merci pour votre affection et votre sincère fidélité.

Que DIEU renforce d'avantage ce lien si sacré qui nous unit.

-A mes aines du laboratoire du centre de santé de référence

Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et merci sincèrement pour tout.

-Au personnel du centre de santé de référence de la commune IV et plus particulièrement au personnel du laboratoire. Merci pour votre collaboration, votre contribution et votre esprit d'équipe.

-A tout le corps professoral de la FMPOS

Je vous témoigne toute ma reconnaissance et mes remerciements pour l'enseignement et les encadrements reçus.

-A tous mes enseignants depuis le primaire

Vous avez toutes mes considérations et je vous suis parfaitement reconnaissant pour toute la formation que vous m'aviez donnée.

-A tous les étudiants de la FMPOS

Merci pour mon séjour, je n'oublierai jamais les nombreux souvenirs des années.

-A toutes les personnes de bonne volonté de près ou de loin qui ont contribué à la bonne réussite de ce travail.

Merci

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Professeur Soukalo DAO ;

Maître de Conférences à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) ;

Président de la Société Malienne de Pathologie infectieuse (SOMAPiT) ;

Membre de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue française (SPILF)

Investigateur Clinique au Centre de Recherche et de la Formation sur la tuberculose /VIH.

Homme aux qualités scientifiques importantes, nous avons été séduits par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements ;

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie mérite le respect.

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Docteur Moustapha TOURÉ

- **Diplômé de gynécologie et obstétrique**
- **Diplômé d'échographie de la faculté de médecine de Brest**
- **Titulaire d'un certificat du cours européen d'épidémiologie tropical de bale en suisse**
- **Titulaire d'un certificat de fécondation in vitro de Hambourg en Allemagne**
- **Titulaire du master en recherche sur le système de santé de l'université libre de Bruxelles**
- **Médecin chef du centre de santé de référence de la commune IV du district de Bamako**
- **Maitre assistant de gynécologie et d'obstétrique à la FMPOS**
- **Chevalier de l'ordre national**

Cher maitre

Notre séjour dans votre service nous a fait découvrir outre vos qualités humaines, votre rigueur scientifique, vos connaissances larges votre exigence pour le travail bien fait faisant de vous un homme respectable et respecté. Si ce travail est une réussite il le doit a votre compétence et a votre savoir faire soyez rassuré cher maitre de notre profonde reconnaissance et sympathie

À notre Maître et juge

Docteur Seydou S. DIARRA

Spécialiste en microbiologie

Chef de service bactériologique à l'INRSP

Maître chargé de l'enseignement de la bactériologie à l'institut de formation des techniciens de laboratoire

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre simplicité, votre modestie et votre rigueur dans la recherche scientifique font de vous un homme respecté et admirable.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

À NOTRE MAÎTRE ET CO- DIRECTEUR DE THÈSE

Professeur Souleymane DIALLO ;

Pharmacien biologiste, Colonel des Forces Armées du Mali.

Chef du département technique labo-pharmacie du CHU Gabriel TOURÉ ;

Maître assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS).

Cher Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous pour effectuer ce travail. Les mots me manquent pour exprimer combien cela fut un plaisir de travailler avec vous. Homme de principe votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité et votre rigueur scientifique font de vous un maître exemplaire et reconnu de tous ;

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre grande admiration et de notre profonde reconnaissance.

À NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;

Maître de conférences agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS);

**Directeur général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique ;
Responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS).**

Cher Maître, nous vous sommes infiniment reconnaissant d'avoir accepté de diriger cette thèse;

Vous nous avez toujours montré un grand intérêt pour tout ce qui touche notre formation.

Homme de principe, votre rigueur scientifique fait de vous un maître exemplaire et reconnu de tous ;

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre grande admiration et de notre profonde reconnaissance.

PLAN

1. INTRODUCTION
2. GÉNÉRALITÉS
 - 2.1. ASSURANCE QUALITÉ ;
 - 2.2. INFECTION À MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
3. MÉTHODOLOGIE
4. RÉSULTATS
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS
7. ANNEXES
8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES TABLEAUX :

TABLEAU N° I : bâtiments, fluides et généralités

TABLEAU N° II: biosécurité et hygiène

TABLEAU N° III : Prélèvements et hygiène

TABLEAU N° IV : réactifs et approvisionnement

TABLEAU N° V: qualité totale

TABLEAU N°VI: rapports, analyse et communication

TABLEAU N° VII: EQUIPEMENT

TABLEAU N°VIII : Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les appréciations

TABLEAU N°IX : Nombre d'examens microscopiques selon le sexe

TABLEAU N°X : Nombre d'examen microscopique selon la provenance

TABLEAU N°XI : Résultat de la microscopie durant la période d'études

TABLEAU N°XII : Résultat de la microscopie selon le sexe

TABLEAU N°XIII : Résultat de la microscopie selon l'âge des patients

TABLEAU N°XIV : Résultat de la microscopie selon la raison d'examen

TABLEAU N°XV : Résultat de la microscopie selon l'expectoration.

TABLEAU N°XVI : Chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse.

LISTE DES FIGURES :

Figure N°1. Frottis bien identifié et bien étalé

Figure N°2. Méthode de lecture d'une lame

Abréviations et sigles

AQ: assurance de la Qualité

BAAR: Bacille Acidoalcoolo-résistant

BK: Bacille de Koch

BCG: Bacille de Calmette et Guérin

CS Réf CIV: Centre de Santé de Référence de la commune IV

CPN: consultation prénatale

CQ: contrôle qualité

CQE: Contrôle de qualité externe

CQI : Contrôle de qualité interne

DAT: Dispensaire Antituberculeux

DRS: Direction Régionale de la Santé

DPM : Direction de la Pharmacie et du Médicament

EQ: évaluation de la qualité

GBEA: Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale

IDR: Intra- Dermo- réaction

INRSP: Institut National de Recherche en Santé Publique

PAS : acide Para- Amino- Salicylique

PF: planning familial

PMI: Protection Maternelle et Infantile

PNLT: Programme National de Lutte contre la Tuberculose

PVVIH: personne vivant avec le VIH

SOPs: « Standard Operating Procedures »

1. INTRODUCTION.....	1
1.1. Objectif général.....	2
1.2. Objectifs spécifiques	2
2. GENERALITES.....	3
2.1. Assurance qualité.....	3
2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d’analyse biomédicale.....	3
2.1.2. Exécution des analyses.....	13
2.1.3. Mise en place de la démarche qualité.....	20
2.1.4. Documentation du laboratoire.....	24
2.2. INFECTION A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.....	26
2.2.1. Historique.....	26
2.2.2. Taxonomie.....	27
2.2.3. Caractères généraux.....	28
2.2.4. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
3. METHODOLOGIE.....	32
3.1. Cadre de l’étude.....	32
3.1.1. Le laboratoire d’analyses médicales.....	33
3.2. Population d’étude	34
3.3. Type d’étude.....	34
3.4. Critères d’inclusion et de non inclusion.....	34
3.4.1. Critères d’inclusion.....	34
3.4.2. Critères de non inclusion.....	34
3.5. Aspects éthiques.....	34
3.5.1. Confidentialité.....	34
3.5.2. Risques liés à l’étude.....	34
3.5.3. Respect des références bibliographiques.....	34
3.6. Echantillonnage.....	35
3.6.1. Méthode et techniques d’échantillonnage	35
3.6.2. Taille de l’échantillon.....	35

3.6.3. Variables étudiées.....	35
3.7. Conditions de sécurité au laboratoire.....	35
3.8 Optimisation des conditions opératoires.....	36
3.9. Méthode de laboratoire.....	37
3.9.1. Principes – Indications.....	38
3.9. 2. Prélèvements.....	38
3.9. 3. Matériel et Réactifs.....	39
3.9. 4. Mode opératoire.....	40
3.9.5. Hygiène et Sécurité.....	43
3.9.6. Bonnes Pratiques de laboratoire appliquées à l'examen des crachats.....	44
4. RÉSULTATS.....	46
4.1. Évaluation de la structure du laboratoire.....	46
4.2. Nombre d'examens microscopiques effectué au laboratoire.....	53
4.3. Résultat de la microscopie.....	54
5. COMMENTAIRE ET DISCUSSION.....	56
5.1. Evaluation du laboratoire.....	56
5.1.1. Présentation physique des laboratoires.....	56
5.1.2. Matériel.....	56
5.1.3. Préparation des colorants.....	56
5.2. Recueil des crachats.....	56
5.3. Résultats de la lecture des lames.....	56
5.4. Bio sureté et Biosécurité.....	56
5.5. Prise en charge et suivi des malades.....	57
5.6. Du point de vue de la méthode.....	58
5.7. Difficultés.....	60
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATION.....	61
6.1. Conclusion.....	61
6.2. Recommandation	61

7. ANNEXES.....	62
7.1. Annexe 1. Mode opératoire de l'examen de crachats.....	63
7.2. Annexe 2. Confection, séchage et fixation des frottis.....	67
7.3. Annexe 3. Coloration des frottis.....	70
7.4. Annexe 4. Lecture et Interprétation des résultats.....	72
7.5. Annexe 5. Dégraissage des frottis lus.....	74
7.6. Annexe 6 .Définition des termes.....	76
7.7. Annexe 7.FORMULAIRE DE DEMANDE D'EXAMEN D'EXPECTORATION..	81
7.8. Annexe 8. Chronogramme des activités	83
8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	84

1. INTRODUCTION.

Le laboratoire d'analyses médicales joue un rôle essentiel dans l'amélioration de la qualité des soins, le suivi des malades et la surveillance des maladies. Malheureusement, dans beaucoup de pays en voie de développement, il est vu comme un appendice accessoire du système de santé ; dans le secteur public, il est souvent considéré comme un simple consommateur de budget et donc négligé. Son rôle d'appui à la clinique est insuffisamment connu et exploité.

Au Mali, le Ministère de la Santé a entrepris depuis 1996 un vaste programme de développement sanitaire afin de donner aux populations, un niveau de santé qui leur permet de mener une vie socialement et économiquement productive.

L'objectif principal de ce programme était de garantir la viabilité du système de santé et la qualité des prestations [1]

Conscient du rôle du laboratoire dans l'atteinte de cet objectif, le Ministère de la Santé a confié à la Direction de la Pharmacie et du Médicament (DPM) la mission d'«assurer la disponibilité et la qualité des analyses de biologie médicale par niveau de soins » depuis lors.

L'acte de biologie médicale s'inscrit dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. Le biologiste ou le responsable de laboratoire assure la responsabilité de cet acte qui inclut le prélèvement, l'exécution de l'analyse, la validation des résultats, et si nécessaire leur confrontation avec les données cliniques et biologiques des patients. Il participe par ses commentaires, le cas échéant, à l'interprétation des résultats de l'analyse de biologie médicale. Ces résultats concourent au diagnostic et à la prescription des soins. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle et constante du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire. La bonne exécution des analyses de biologie médicale est une des conditions déterminantes de cette qualité [1]

Aucune étude de ce genre n'a été effectuée au centre de santé de référence de la commune IV ce qui justifie la présente étude dont les objectifs sont les suivants:

1.1. OBJECTIF GENERAL

Contribuer à l'assurance qualité dans le diagnostic de la tuberculose au centre de santé de référence de la commune IV de Bamako au Mali

1.2. OBJECTIF SPECIFIQUE :

- Etudier l'assurance qualité dans le domaine de la biologie ;
- Evaluer le laboratoire ;
- Décrire la méthode de prélèvement des crachats pour la bacilloscopie ;
- Effectuer l'examen bactériologique des crachats ;
- Analyser les résultats du laboratoire de l'année 2009 ;
- Gérer les déchets biomédicaux du laboratoire.

2. GÉNÉRALITES :

2 .1. Assurance qualité.

2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d'analyse bio- médicale.

2.1.1.1. Organisation.

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de qualité fondé sur des procédures et des modes opératoires écrits concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution.

La qualité de l'analyse dépend de l'organisation générale du laboratoire, de la qualification et de la motivation du personnel ainsi que du respect des procédures opératoires lors des différentes étapes de l'exécution des examens : pré analytique, analytique et post analytique.

Un système d'assurance de qualité doit être permanent et doit conserver une trace des contrôles effectués et de l'efficacité des actions correctives. Sans cette traçabilité, il est difficile, et parfois impossible, de retrouver une erreur et/ou d'en analyser les causes pour en éviter la répétition.

L'assurance de qualité des différents services ou unités d'un établissement de santé doit avoir le même objectif [1]

➤ Responsabilités de l'administration

Pour assurer la fonctionnalité d'un laboratoire de biologie médicale et la qualité des analyses, l'administration doit en collaboration avec le biologiste ou le responsable du laboratoire réunir les préalables suivants :

- mettre à disposition des locaux appropriés ;
- mettre à disposition les équipements nécessaires (appareils, fournitures de bureau, outils informatiques...) ;
- recruter les ressources humaines qualifiées et compétentes ;
- mettre en place un système d'approvisionnement fonctionnel en réactifs, consommables et petits matériels ;

- planifier la formation continue du personnel et sa participation aux congrès, colloques, séminaires nationaux et internationaux ;
- mettre en place un mécanisme efficace de motivation du personnel ;
- créer un système d'information et de communication à l'interne et externe (téléphone, fax, Internet...) ;
- prendre les dispositions pour intégrer le laboratoire dans un réseau de contrôle de qualité.

L'ensemble du personnel de l'Etablissement Sanitaire doit être impliqué dans le système d'assurance de qualité qui est placé sous l'autorité et la responsabilité du directeur de l'établissement. [2]

➤ **Obligations des responsables du laboratoire**

● **Concernant le personnel :**

- établir un organigramme du laboratoire ;
- s'assurer que le personnel est apte aux tâches qui lui sont confiées et assurer la formation nécessaire à cet effet ;
- s'assurer que chaque opération réalisée au laboratoire est confiée à une personne présentant la qualification, la formation et l'expérience appropriées ;
- mettre à la disposition du personnel les procédures et modes opératoires ;
- informer le personnel de la mise en place de toute nouvelle procédure et mode opératoire et de leur(s) modification(s) ultérieure(s) éventuelle(s).

● **Concernant les procédures :**

- s'assurer que les procédures en vigueur, écrites, vérifiées, approuvées et datées, sont mises en œuvre par le personnel ;
- s'assurer que toute modification justifiée de procédure est écrite, approuvée, enregistrée, datée, communiquée et que le personnel est formé à l'application de cette modification ;
- s'assurer que toute modification de procédure susceptible de changer le libellé ou la remise des résultats entraîne l'information du prescripteur sur les comptes rendus d'analyses afin d'éviter des interprétations erronées ;

- conserver un fichier chronologique de toutes les procédures ;
 - veiller à la réalisation, par un personnel qualifié et compétent, de l'exécution du programme d'assurance de qualité défini par le guide ;
 - procéder, en cas de dysfonctionnement révélé par les contrôles de qualité, à toutes les opérations susceptibles de corriger les anomalies et s'assurer de l'enregistrement des mesures correctives entreprises et évaluer leurs résultats;
 - s'assurer de la gestion des archives.
- **Concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits fongibles et les réactifs :**
 - s'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels ;
 - s'assurer que les produits fongibles sont appropriés ;
 - s'assurer que les réactifs sont disponibles, non périmés, conservés dans les conditions définies par le fabricant et conformes à la réglementation en vigueur ;
 - s'assurer que les installations, l'équipement, les produits fongibles et les réactifs utilisés sont adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques ;
 - s'assurer que les logiciels utilisés, soit pour le fonctionnement des appareils, soit pour l'aide à l'interprétation des résultats, sont protégés de toute intrusion non autorisée et adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques.
 - **Concernant la sécurité des personnels :**
 - s'assurer que les mesures concernant la santé et la sécurité des personnels et la protection de l'environnement, notamment l'interdiction de fumer et l'interdiction d'introduire, de conserver et de consommer des denrées alimentaires dans les locaux de prélèvements, de réception des prélèvements et d'analyses, sont appliquées conformément aux textes en vigueur et, le cas

échéant, en coordination avec le médecin du travail et le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ;

- établir et mettre en œuvre les procédures applicables relatives à l'hygiène et à la sécurité du personnel, par exemple : utilisation de gants, de verres protecteurs, changement de blouses et utilisation de sur blouses, interdiction de porter à la bouche des pipettes lors de l'aspiration de liquides, non recapuchonnage des aiguilles après prélèvement, utilisation de hottes lors de la manipulation de produits dangereux et/ou contaminants, nettoyage des plans de travail et des appareillages avec respect des durées d'action des désinfectants et des décontaminants ;
- s'assurer du respect des mesures techniques de prévention pour les travailleurs en fonction de la toxicité des produits employés et de la classification des germes;
- s'assurer de l'élimination des déchets : manipuler, conserver et éliminer les déchets en prenant toutes les précautions nécessaires pour éviter les contaminations. [3]

➤ **Obligations du personnel de laboratoire**

Le personnel doit se conformer à toutes les procédures et modes opératoires en vigueur dans le laboratoire. Le personnel a l'obligation d'appliquer les prescriptions du guide de bonne exécution des examens et doit tenir compte de ses recommandations.

➤ **Compte rendu d'analyse**

- Le biologiste ou le responsable du laboratoire doit, en accord avec les dispositions réglementaires :
- valider les résultats des examens biologiques après s'être assuré que leur exécution est conforme aux recommandations du guide ;
- signer les comptes rendus d'analyses ;

- s'assurer que leur transmission se fait dans les délais compatibles avec leur bonne utilisation clinique et dans des conditions de confidentialité préservant le secret professionnel. [1]

2.1.1.2 Locaux.

➤ Aménagement, accessibilité et entretien

Les dimensions, la construction et la localisation du laboratoire doivent être conformes à des normes :

- un local de réception ;
- un bureau ;
- un secrétariat et archives ;
- deux salles de prélèvement ;
- des salles affectées aux activités techniques du laboratoire ;
- des toilettes.

Le bâtiment abritant le laboratoire doit être séparé de ceux des autres structures, et facile d'accès.

Les zones de stockage des matières premières et/ou des réactifs toxiques ou potentiellement dangereux ou contaminants doivent être séparées.

Le nettoyage du matériel et le tri des déchets doivent se faire dans des conditions de sécurité pour le personnel et pour la qualité des analyses. [2]

➤ Sécurité

Pour des raisons de sécurité des personnes, d'intégrité des processus et de confidentialité, l'accès des locaux est réservé aux utilisateurs autorisés. Les mouvements des visiteurs et intervenants extérieurs sont strictement limités.

Les locaux sont équipés de dispositifs de protection contre le feu, d'alarme et d'extinction suffisants et bien répartis. Ils peuvent être évacués rapidement.

Les risques chimiques, microbiologiques ou radioactifs sont confinés.

2.1.1.3. Équipements.

Un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer du matériel adéquat et doit s'équiper de tout le matériel nécessaire en fonction des analyses, y compris les analyses d'urgence qu'il déclare effectuer. Le biologiste doit tenir à jour une liste des analyses effectivement réalisées avec le matériel présent et la mettre à la disposition des autorités compétentes.

Dans certains cas, une recherche qualitative ou une orientation du diagnostic peut n'exiger qu'un équipement élémentaire ; dans d'autres cas, un dosage particulier peut requérir un matériel très performant. Les techniques automatisées n'excluent pas les techniques manuelles auxquelles on est parfois obligé de recourir.

Les systèmes analytiques utilisés pour l'obtention des résultats doivent être choisis en fonction des performances souhaitées et des résultats des expertises réalisées indépendamment du constructeur ou du vendeur. Si le système analytique choisi n'a pas fait l'objet d'expertise indépendante du constructeur, le biologiste doit s'assurer que les résultats fournis sont conformes aux exigences attendues et donc transférables dans la mesure du possible.

Le biologiste doit s'assurer du respect des modalités d'installation, de fonctionnement et d'entretien préconisées dans la notice du fabricant des matériels et des automates présents dans le laboratoire. Il doit en particulier vérifier que les versions des logiciels possèdent des capacités suffisantes et sont compatibles avec les automates utilisés. Dans le cas d'automates permettant d'effectuer des analyses autres que celles prévues par le fabricant ou utilisant des réactifs non fournis par celui-ci, toute extension d'utilisation non validée par le fournisseur engage la responsabilité du biologiste.

Les appareils doivent être périodiquement et efficacement inspectés, nettoyés, entretenus et vérifiés selon la procédure en vigueur. L'ensemble de ces opérations ainsi que les visites d'entretien et de réparation du constructeur ou de l'organisme de maintenance doivent être consignées par écrit dans un registre de maintenance affecté à chaque instrument.

Le responsable du laboratoire doit s'assurer de la mise en œuvre des moyens métrologiques nécessaires à leur vérification usuelle. Les notices d'utilisation et de maintenance d'appareils doivent être mises en permanence à la disposition du personnel utilisateur et respectées. Le fonctionnement des appareils doit être vérifié selon la fréquence préconisée par le fabricant. Des procédures de remplacement doivent être prévues en cas de dysfonctionnement d'un automate :

mise en œuvre d'autres techniques ou transmission des échantillons à un autre laboratoire. [1]

➤ **Équipements de base**

L'équipement de base recommandé pour un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale est le suivant :

- Un microscope pourvu des accessoires indispensables à l'exécution des actes pratiqués par le laboratoire ;
- Une centrifugeuse adaptée aux examens pratiqués avec ses accessoires et permettant d'obtenir au fond des tubes une accélération comprise entre 500 et 2500 g ;
- Un spectrophotomètre disposant d'une gamme spectrale comprise entre 340 et 700 nm ; l'appareil doit comporter un dispositif de régulation thermique des cuves ;
- Une balance permettant d'apprécier le milligramme ;
- Une étuve à température réglable jusqu'à 120 °C ;
- Un bain-marie à température réglable jusqu'à 70 °C ;
- un réfrigérateur à 2-8 °C ;
- un congélateur permettant d'obtenir une température égale ou inférieure à -18 °C ;
- le petit matériel permettant de mesurer avec précision les volumes et la verrerie courante ;
- un autoclave ;
- un agitateur de Kline ;
- des bacs de coloration ;
- un générateur d'eau distillée ou désionisée.
- un dispositif de gestion des déchets biomédicaux ou la possibilité d'accès à ce dispositif.

Ce matériel doit être maintenu en permanence en bon état de fonctionnement. [3]

➤ Équipements par spécialités

Le matériel ci-dessus cité doit être complété, dans certains cas, par un équipement spécifique :

- **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la microbiologie (bactériologie et virologie, de la mycologie et de la parasitologie) :**
 - un dispositif permettant la centrifugation en nacelles étanches ;
 - deux étuves à températures réglables, dont une à CO₂ ;
 - un dispositif permettant de produire et d'entretenir une atmosphère appauvrie en oxygène et/ou enrichie en dioxyde de carbone dans une enceinte appropriée;
 - pour les laboratoires pratiquant l'identification et, le cas échéant, les antibiogrammes des agents infectieux (mycobactéries, *chlamydiae* et certains virus) une hotte de confinement doit être adaptée ;
 - un congélateur de -80 °C et un microscope inversé pour les laboratoires pratiquant les cultures virales ;
 - un micromètre oculaire étalonné pour la parasitologie ;
 - une lampe de Wood, des curettes... [1]

2.1.1.4. Petits matériels.

Le petit matériel indispensable au fonctionnement des appareils doit être conforme aux normes spécifiées par les constructeurs et doit être utilisé uniquement selon l'usage et les modalités prévues dans la notice. [2]

2.1.1.5. Réactifs et consommables.

Les réactifs et les consommables doivent être certifiés conformes.

L'étiquetage des réactifs, milieux de culture, matériels de contrôle, étalons et consommables est conforme à la législation et aux normes en vigueur.

Un procès-verbal reprenant ces indications est tenu à jour pour chaque système analytique.

Les composants de plusieurs trousse ne sont pas permutables sans autorisation du fabricant. [3]

2.1.1.6. Secrétariat.

Le secrétariat doit être équipé à terme d'outils informatiques, de photocopieuse et de fournitures de bureau.

Le traitement des informations doit être conçu, réalisé et utilisé de façon à respecter la confidentialité, à éviter les erreurs ou les pertes de données. L'accès total ou partiel aux données doit être limité au personnel autorisé.

Une procédure doit être établie pour éviter la perte des informations en cas de panne du système informatique.

Le système informatique doit comprendre des dispositifs efficaces de protection contre toute tentative d'accès par des personnes non autorisées. Toute modification des informations ou des programmes ne peut être effectuée que par une personne autorisée et identifiée. La trace d'une modification d'un programme doit être conservée.

Le responsable du laboratoire ou de l'établissement dont il dépend doit passer une convention avec l'organisme chargé de la maintenance du système informatique.

Cette convention doit préciser entre autres :

- que le personnel de cet organisme est soumis aux règles du secret professionnel ; que les moyens nécessaires sont mis en œuvre pour assurer la protection des données médicales confidentielles ;
- que chaque intervention effectuée sur place, ou à distance par télémaintenance, ne peut être réalisée qu'à la demande du biologiste, par du personnel autorisé et identifié, et fait l'objet d'un compte rendu détaillé, comportant l'identification de l'intervenant, signé, adressé au biologiste qui le consigne et l'annexe au registre de maintenance du système.

2.1.1.7. Gestion des déchets biomédicaux.

La gestion des déchets doit être conforme à la législation et à la réglementation.

La filière d'élimination des déchets doit être conduite de manière à ne pas compromettre la santé et la sécurité du personnel du laboratoire, ainsi que celles

du personnel de collecte et à ne pas polluer l'environnement. La procédure se fait par collecte, tri puis destruction des déchets. Les laboratoires doivent disposer d'un incinérateur à cet effet, même à distance du site de l'établissement.

Les déchets liquides doivent être traités avant leur élimination [1]

➤ **Élimination des déchets de prélèvements**

Pour leur élimination, les matériels utilisés pour les prélèvements peuvent être classés en deux catégories :

- **les matériels piquants ou coupants** qui doivent obligatoirement être recueillis dans des récipients spéciaux (boîtes de collecte) ;
- **les autres matériels** qui constituent des déchets d'activités de soins à risques infectieux, doivent être collectés dans les sacs plastiques.

➤ **Élimination des déchets générés par l'exécution des analyses**

Ces déchets sont séparés en deux groupes :

- déchets à risques ;
- autres déchets assimilables à des ordures ménagères.
- **Les déchets à risques sont séparés en trois groupes :**
 - déchets potentiellement contaminés : déchets d'activité de soins à risques infectieux y compris les restes d'échantillons biologiques analysés, les déchets piquants ou coupants, les produits sanguins et les déchets anatomiques ;
 - produits toxiques ou chimiques ;
 - produits radioactifs.

Pour chaque groupe, une filière d'élimination doit être mise en place avec des modalités spécifiques de conditionnement, de stockage, de transport, de traitement et de prétraitement. Lorsqu'une société prestataire de services effectue l'élimination, un contrat doit être établi avec le laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale ou avec l'établissement dont il dépend. Chaque filière doit donner lieu à l'élaboration d'un bordereau de suivi. Celui-ci permet au laboratoire de justifier des quantités de déchets éliminés ainsi que des modalités de cette élimination.

○ **Les déchets assimilables à des ordures ménagères**

Sont à entreposer en conteneurs en vue de leur élimination par le circuit des ordures ménagères après accord de la collectivité locale. [1]

2.1.2. Exécution des analyses.

2.1.2.1. Procédures et Modes Opératoires.

➤ Généralités

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer de procédures et de Modes Opératoires Normalisés (MON) ou « Standard Operating Procedures (SOPs)» écrits, datés et techniquement validés, afin d'assurer la qualité des résultats et la conformité au Guide de Bonne Exécution des Analyses.

Dans chaque zone d'activité spécifique du laboratoire, les procédures et modes opératoires relatifs aux opérations qui y sont réalisées doivent être immédiatement disponibles. Des livres, des articles, des manuels peuvent être utilisés comme complément sans s'y substituer. Ces procédures et modes opératoires ne doivent pas être figés dans le temps, mais être adaptés à l'évolution des connaissances et des données techniques. Toute modification d'une procédure doit être écrite. Elle doit être approuvée par le biologiste, directeur du laboratoire ou chef de service ou de département, le cas échéant, par le biologiste responsable de l'activité concernée, et éventuellement après avis de la personne chargée de l'assurance de qualité. Elle doit faire l'objet d'une information et d'une formation du personnel.

La réalisation des actes de biologie doit respecter les obligations techniques prévues par la nomenclature des actes de biologie médicale et par les textes en vigueur concernant les réactifs et les appareils de mesure.

La période d'utilisation au laboratoire de chaque lot de réactif doit être consignée, de sorte qu'en cas de besoin on puisse rapprocher un résultat avec les réactifs ayant permis de les obtenir.

Le mélange de plusieurs échantillons issus d'individus différents est interdit pour des analyses individuelles de biologie médicale : chaque échantillon biologique doit être traité séparément. [2]

➤ Applications

Les procédures et modes opératoires disponibles concernent les points suivants :

- les instructions relatives à la préparation du patient et aux modalités du prélèvement ;
- le choix du récipient destiné à recevoir l'échantillon ;
- le mode de prélèvement ;
- l'identification du patient et de l'échantillon : nom patronymique, prénom, nom marital, sexe, date de naissance ;
- le transport éventuel des échantillons ;
- le traitement préalable de l'échantillon (centrifugation, répartition en fractions aliquotes...); les interférences des médicaments et/ou des aliments susceptibles de modifier les résultats de l'analyse ;
- la conservation avant et après analyse ;
- l'appareillage (utilisation, entretien, étalonnage, vérification) ;
- les conditions d'utilisation des réactifs en application de la réglementation en vigueur ; la réalisation de l'analyse avec une description de la méthode utilisée. Il est important que cette méthode soit adaptée aux connaissances théoriques et données techniques du moment.
- Dans la mesure du possible, elle suivra les recommandations des sociétés savantes de biologie nationales ou internationales :
- les règles de validation ;
- la transmission des analyses ;
- l'hygiène et la sécurité du laboratoire ;
- l'assurance de qualité ;
- la gestion des systèmes informatiques éventuels. [3]

2.1.2.2 Échantillons.

➤ Prélèvements des échantillons

Le biologiste ou le responsable du laboratoire fournit aux médecins prescripteurs toutes les précisions utiles aux conditions de mise en œuvre des analyses médicales.

La fiche de demande d'examen accompagnant l'échantillon doit comporter tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats, en particulier pour certaines maladies dont la tuberculose. Un modèle de ces fiches figure en annexes 7.

Le prélèvement peut être effectué par le médecin prescripteur, par le biologiste ou par du personnel qualifié et autorisé. Ces personnes doivent être formées aux procédures de prélèvement du laboratoire et informées des risques d'erreurs sur les résultats d'analyses consécutives à la réalisation défectueuse du prélèvement et à la nécessité de préciser au biologiste ou au responsable du laboratoire tout incident survenu au cours du prélèvement.

Le biologiste ou le responsable du laboratoire vérifie la conformité des échantillons biologiques acceptés dans son laboratoire. Il doit refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires. Le motif de ce refus sera porté à la connaissance du médecin prescripteur. Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement difficile ou unique, les critères d'acceptation doivent être appréciés avec circonspection ; le résultat doit faire mention de ces éventuelles réserves si cela est nécessaire. Chaque fois que cela est possible, il est souhaitable que le prélèvement soit effectué au laboratoire.

Le prélèvement doit être réalisé en règle générale avec du matériel stérile à usage unique. Le récipient destiné à recevoir l'échantillon biologique doit être adapté à la nature de l'échantillon et à celle des analyses. En particulier, la nature du récipient, son système de fermeture, la nature et la quantité ou la concentration des substances adjuvantes qu'il peut contenir doivent être connus et précisés en

fonction de l'échantillon auquel ils sont destinés. Le récipient doit être conçu pour éviter tout risque de contamination et de pollution.

Le patient doit être informé et rassuré des conditions de prélèvements. [2]

➤ **Identifications des échantillons**

❖ **Tubes ou récipients primaires :**

L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci. L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne. Il doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible, le nom de fille si une procédure le prévoit, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et, chaque fois qu'une procédure le prévoit, l'heure du prélèvement et/ou sa localisation. Si la taille du tube ne permet pas l'apposition d'une étiquette comportant l'ensemble des renseignements précités ou si la confidentialité l'exige, le tube portera seulement le numéro d'identification joint à une fiche de renseignement.

Le biologiste doit mettre en place une procédure permettant de lier l'échantillon biologique au patient, même si l'identité de celui-ci est incomplète ou approximative, ou lorsque l'anonymat est souhaité. Cette procédure indiquera également la marche à suivre si l'échantillon biologique fourni par le préleveur ne possède aucune identification.

❖ **Tubes ou récipients secondaires :**

Lors de la préparation de fractions aliquotes, l'étiquetage des tubes ou récipients secondaires doit se faire selon les procédures rigoureuses permettant l'identification sans ambiguïté de chaque échantillon au sein du poste de travail ou du poste de stockage.

➤ **Transport et transmission des échantillons :**

Le transport des échantillons doit respecter des règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels. Le transport des échantillons biologiques doit s'effectuer le plus rapidement possible au laboratoire en prenant

toutes les précautions pour éviter les risques de contamination et de dégradation des constituants.

Si l'échantillon doit être transmis à un autre laboratoire, la fiche de demande d'examen ou sa copie ou, à défaut, une fiche de renseignements établie par le biologiste doit être associée. Les dates et les heures de réception des échantillons biologiques au laboratoire destinataire doivent être enregistrées.

➤ **Conservation des échantillons**

Les conditions de conservation doivent être conformes aux règles de sécurité et d'hygiène en vigueur pour éviter toute contamination du personnel ou toute pollution.

Les échantillons de calibrage et de contrôle doivent être conservés avec soin dans les conditions précisées par le fabricant. Toutes les précautions doivent être prises pour éviter les phénomènes d'évaporation et de contamination.

Avant exécution des analyses, si celles-ci sont différées, les échantillons et leurs fractions aliquotes doivent être conservés dans des conditions qui préservent leur qualité. La congélation de fractions aliquotes obtenues après reconstitution d'échantillons lyophilisés (calibrateurs et contrôles) engage la responsabilité du biologiste. [2]

Après exécution des analyses, les échantillons peuvent être conservés pour permettre une comparaison ou une vérification ultérieure. Cette conservation est d'ailleurs obligatoire pour certains examens comme la bacilloscopie.

Les conditions d'identification, de fermeture des récipients et de température de conservation doivent être rigoureusement observées pour éviter tout risque d'erreur, de modification qualitative et/ou quantitative et de contamination. La durée de conservation pour chaque cas particulier doit, si elle n'est pas réglementée, être fixée par le biologiste ou le responsable du laboratoire et inscrite sur les procédures opératoires.

2.1.2.3. Validation des résultats

La validation des résultats est double : elle comporte une validation analytique, qui peut être réalisée par le personnel d'exécution sous la responsabilité du biologiste, et une validation biologique, qui est de la compétence exclusive du biologiste ou le responsable du laboratoire.

➤ Validation analytique (responsabilité technique)

La validation analytique des examens doit être soumise à des procédures précises écrites. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des instruments et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne.

➤ Validation biologique (par le Biologiste ou le responsable du laboratoire)

La validation biologique doit s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour le même patient à des temps différents, compte tenu, le cas échéant, des variations de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs. Le recours à un système d'aide à la validation ne décharge pas le biologiste de sa responsabilité en matière de validation biologique pour chaque compte rendu. [1]

2.1.2.4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses

➤ Expression des résultats

L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige.

Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent.

➤ **Comptes rendus d'analyse et signature**

Les comptes rendus d'analyses doivent figurer sur un papier à en-tête du laboratoire comportant les mentions fixées réglementairement et être signés par le biologiste. Les comptes rendus ne peuvent être communiqués qu'après les opérations de validation. Toutefois, pour les patients hospitalisés et dans le cas des examens demandés en urgence, des résultats partiels peuvent être transmis dans des conditions définies par le biologiste et sous sa responsabilité, avant la validation biologique de l'ensemble des résultats demandés. Ils doivent être confirmés dès que celle-ci aura été effectuée par un biologiste et le médecin traitant doit être informé de cette particularité. [2]

2.1.2.5. Transmission des résultats

Elle doit se conformer à la législation et à la réglementation en vigueur et assurer le respect du secret professionnel.

Les résultats d'analyses sont remis comme suit :

- au patient en main propre ou envoyés sous pli cacheté, à son nom et à l'adresse qu'il communique ;
- au médecin prescripteur, sauf opposition du patient ;
- à une tierce personne dûment mandatée par le patient ;
- au médecin prescripteur, lorsque le patient est hospitalisé ;

Lorsque le patient est un mineur ou un majeur protégé par la loi, le biologiste ne peut donner les résultats qu'au représentant légal ou au médecin prescripteur. Lorsque le résultat d'un examen biologique met en jeu le pronostic vital, le biologiste doit tout mettre en œuvre pour joindre et avertir le médecin traitant ou l'équipe médicale dans les plus brefs délais. Un résultat laissant présager un pronostic grave ou fatal ne doit être révélé qu'avec la plus grande circonspection. Si les résultats ne peuvent pas être communiqués au médecin prescripteur (changement de médecin, analyses effectuées à l'initiative du biologiste ou ajoutées à la demande du patient), le biologiste doit demander au malade de lui désigner le médecin à qui il souhaiterait voir remettre les résultats.

- Les comptes rendus des analyses de cytogénétique ou de biologie destinées à établir un diagnostic prénatal ne peuvent être remis à la femme enceinte que par l'intermédiaire du médecin prescripteur.
- Les comptes rendus d'analyses effectués sur réquisition judiciaire ne peuvent être adressés qu'à l'autorité requérante dans des conditions garantissant la confidentialité.
- Le compte rendu d'analyses prescrites par le médecin du travail dans le cadre de sa mission (avis d'aptitude notamment) lui est directement communiqué par le laboratoire qui les a effectuées. Le médecin du travail informe le salarié des résultats.
- Un biologiste ne peut pas répondre à une demande de renseignements faite par une compagnie d'assurances concernant une analyse, même si cette demande émane du médecin de la compagnie. Les résultats d'analyses destinés à des compagnies d'assurances ne peuvent être remis qu'au patient en main propre, lequel reste libre d'en faire l'usage qu'il désire. [1]

2.1.3. Mise en place de l'Assurance Qualité.

2.1.3.1. Mise en place de la démarche qualité.

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de qualité basé sur des procédures opératoires écrites concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution.

La qualité de l'analyse dépend de l'organisation générale du laboratoire, de la qualification et de la motivation du personnel et du respect des procédures opératoires lors des différentes étapes de l'exécution des examens : pré-analytique, analytique et post-analytique.

Toute l'équipe du laboratoire est concernée par ce système d'assurance qualité qui est placé sous l'autorité du biologiste ou du responsable du laboratoire.

Un système d'assurance de qualité doit être permanent et prévoir une trace des contrôles effectués.

Sans cette trace, il est difficile et parfois impossible de retrouver une erreur et/ou d'en analyser les causes pour en éviter la répétition. [1]

2.1.3.2. Responsabilités de la personne chargée de l'Assurance Qualité.

L'organisation du système d'assurance de qualité du laboratoire est confiée au biologiste, au responsable du laboratoire ou à toute autre personne qui devra avoir la formation, la compétence et l'expérience nécessaires pour accomplir cette tâche. Elle doit notamment s'assurer :

❖ Quant au personnel :

- que les procédures opératoires concernant l'hygiène et la sécurité des personnels sont mises en œuvre ;
- que chaque opération réalisée au laboratoire est confiée à un exécutant présentant la qualification, la formation et l'expérience appropriées ;
- que le personnel est sensibilisé à la notion d'assurance de qualité et formé à la mise en œuvre des pratiques « qualité ».

❖ Quant aux procédures et modes opératoires :

- de leur validation ;
- de leur mise en œuvre ;
- de l'information du personnel de toute modification de procédure ; cette modification approuvée par le biologiste ou le responsable du laboratoire doit être écrite, datée et communiquée au personnel ; celui-ci est formé à son application ;
- de leur conservation dans un fichier chronologique.

❖ Quant au contrôle de qualité :

- de la gestion du programme de contrôle de qualité externe et interne du laboratoire ;
- de la bonne utilisation des données fournies par le contrôle de qualité et de la correction des anomalies ;
- de l'information du biologiste ou du responsable du laboratoire, des constatations et des observations relatives au système d'assurance de qualité ;
- de l'application des mesures consécutives à un retrait éventuel de réactifs par la Direction de la Pharmacie et du Médicament ;

- de la maintenance, du bon fonctionnement des appareillages ;
- de la bonne tenue des documents qui concourent à la traçabilité, notamment ceux concernant les réactifs et la période d'utilisation de chaque lot ;
- d'un système d'assurance de qualité au moins équivalent auprès des laboratoires travaillant en collaboration avec le laboratoire et auxquels sont transmis des échantillons aux fins d'analyses ;
- de la mise en œuvre d'évaluations internes.

❖ **Quant au système de support des données :**

- de la mise en œuvre des procédures opératoires concernant la sécurité des données ;
- de la confidentialité et du respect des procédures d'accès ;
- du respect de la réglementation et de l'information des patients ;
- du respect des procédures de télécommunication et transmissions électroniques ;
- de la conservation des registres et fichiers des traces du système informatique.

2.1.3.3. Evaluation externe de la qualité

➤ **Contrôle de qualité national**

Il s'agit d'un auto- contrôle qui doit se dérouler dans un climat de confiance réciproque. Les résultats individuels produits lors de ce contrôle sont confidentiels et ne peuvent être communiqués aux autorités sanitaires que dans les conditions prévues par les textes.

La participation au programme national d'évaluation externe de la qualité est obligatoire. Une participation loyale est indispensable pour qu'elle soit utile. Cette participation doit être un reflet exact de la pratique. Une optimisation artificielle des résultats du contrôle est inutile pour le laboratoire et nuisible pour la collectivité.

Une participation rigoureuse, reflétant la pratique du laboratoire, est indispensable pour l'utilité de cette évaluation. Les résultats de celle-ci seront en effet très importants pour l'analyse globale qui sera effectuée au niveau national.

Les résultats individuels et globaux de l'évaluation externe de la qualité sont analysés collectivement par toute l'équipe du laboratoire afin de remédier aux erreurs qui pourraient être objectivées. L'étude critique des anomalies détectées par le contrôle de qualité peut induire la remise en cause de la méthode utilisée au laboratoire. Il peut aussi être utile d'engager un dialogue avec les responsables du contrôle de qualité pour éclaircir les raisons d'un résultat discordant inexpliqué. Une trace des décisions induites par les résultats de l'évaluation externe de la qualité doit être conservée en même temps que sont archivés les comptes rendus individuels du laboratoire pendant cinq ans.

La rigueur de cette démarche se justifie parce qu'elle aboutit à une bonne information des biologistes sur la qualité de leurs prestations. Ces informations permettent aux biologistes de corriger les anomalies mises en évidence. Lorsque les résultats du contrôle de qualité d'un laboratoire présentent des anomalies répétées ou importantes au regard de leur utilisation médicale, le cas de ce laboratoire est soumis anonymement à la commission chargée du contrôle de qualité qui se prononce sur le caractère de gravité de ces anomalies. Lorsque celles-ci sont jugées graves, le laboratoire est obligatoirement signalé au département de tutelle par le directeur de la pharmacie et du médicament. [1]

➤ **Autres contrôles de qualité**

Il est recommandé que le laboratoire participe à des contrôles de qualité externes organisés par des sociétés scientifiques, des groupements de biologistes ou tout autre organisme présentant les garanties nécessaires.

2.1.3.4. Évaluation interne de la qualité.

Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste qualifié chargé de l'assurance de qualité.

Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques.

2.1.4. Documentation du laboratoire.

2.1.4.1. Rapports d'activités du service et publications.

C'est le relevé chronologique des analyses exprimées en unités B (lettre clé des analyses) effectuées par le laboratoire ou transmises par ce laboratoire à un autre laboratoire. Ce relevé doit être conservé pendant une période de dix ans

2.1.4.2. Résultats nominatifs des analyses.

Les résultats nominatifs des analyses (bulletin d'analyse) effectuées par le laboratoire doivent être conservés pendant une période d'au moins cinq ans.

2.1.4.3. Registres de laboratoire.

Les dossiers et livres de registre doivent être conservés pendant vingt ans.

2.1.4.4. Normes et procédures.

Il sera conservé un exemplaire des procédures et modes opératoires et de leurs modifications comportant la date de leur mise en œuvre, pendant la durée de leur utilisation et au moins trois ans après la fin de leur utilisation. [3]

2.1.4.5. Résultats des contrôles de qualité et corrections.

Les résultats des contrôles de qualité externes doivent être conservés pendant cinq ans. Le compte rendu des mesures prises pour corriger les anomalies observées à la suite du résultat du contrôle national de qualité, doit être conservé pendant cinq ans. Les résultats des contrôles de qualité internes sont à conserver trois années au moins.

Les documents relatifs aux instruments et à leur maintenance ainsi que ceux relatifs aux modifications des programmes informatiques sont à conserver pendant la durée d'utilisation de ce matériel et les trois ans suivants.

2.1.4.6. Documents relatifs aux appareils, aux réactifs, petits matériels et consommables.

Les documents relatifs aux appareils, réactifs, petits matériels et consommables sont à conserver pendant la durée de leur utilisation.

2.1.4.7. Dossiers administratifs.

Les actes administratifs concernant l'établissement qui abrite le laboratoire, ainsi que ceux du laboratoire lui-même, sont à conserver pendant toute la vie de l'établissement.

Les contrats relatifs à l'enlèvement des déchets sont à conserver pendant trois ans au moins ; et tous les autres contrats aussi longtemps que possible. [1]

2.2. INFECTION À MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.

2.2.1. Historique.

Le caractère microbien de la tuberculose est soupçonné dès 1865 par Villemin. En inoculant des broyats de lésions tuberculeuses, celui-ci reproduit chez le lapin et le cobaye une maladie identique à phtisie humaine. Il en conclut que la « tuberculose est une maladie spécifique. Sa cause réside dans un agent inoculable ».

Dès 1873, le médecin norvégien G. Armauer Hansen découvre que la lèpre est causée par un fin bacille, qui a beaucoup de ressemblance avec celui qui sera découvert 9 ans plus tard par R. Koch. C'est en effet en 1882, que R. Koch colore et fait pousser sur sérum coagulé le bacille responsable de la tuberculose. En montrant peu après que le bacille coloré par la fuchsine anilinée n'est pas décoloré par l'acide nitrique au tiers, Ehrlich met en évidence l'acido résistance des mycobactéries. Ziehl remplace bientôt la fuchsine anilinée par la fuchsine phéniquée et Neelsen publie la méthode de coloration dite de Ziehl-Neelsen, qui couramment employée depuis lors. Quelques années plus tard, en 1887, Nocard et Roux montrent que l'addition de la glycérine stimule la croissance du bacille.

Les travaux de Rivolta en 1889, puis de Maffucci en 1890, conduisent à différencier le bacille aviaire du bacille humain. En 1891 R. Koch décrit le phénomène immunologique qui porte son nom et prépare la première tuberculine. En 1902, à la suite des travaux (1896-1890) de Th. Smith, le bacille bovin est à son tour distingué du bacille humain. Les trois grandes variétés de bacilles pathogènes (humain, bovin, et aviaire) sont dès lors connues. Mais à côté d'elles, de nombreuses mycobactéries commensales ou saprophytes, appelées « bacilles para tuberculeux », sont également décrites (Zahn, 1884 ; Alvarez et Travel, 1885 ; etc.)

De 1908 à 1920, Calmette et Guérin mettent au point le vaccin qui porte leurs noms, le Bacille de Calmette et Guérin (BCG) et qui est employé pour première fois en 1921.

En 1944, S. Waksman découvre la Streptomycine, premier antibiotique actif sur le bacille tuberculeux. Puis viennent, en 1949, l'acide Para- Amino- Salicylique ou PAS ; en 1952, l'Isoniazide et, après de nombreux autres antibiotiques, la Rifampicine en 1967.

En 1953, Buhler et Pollak confirme le pouvoir pathogène occasionnel de certaines espèces de mycobactéries.

En 1968 enfin, Castets, Boisvert, Grumbach, Brunel et Rist décrivent une variété africaine de bacille tuberculeux, qui est élevée rapidement au titre d'espèce et appelée *Mycobacterium africanum*. [4]

S'il n'existe que trois bacilles tuberculeux, les bactériologistes dénombrent des dizaines d'espèces de mycobactéries non tuberculeuses ou peu pathogènes pour l'adulte sain, mais qu'ils adviennent avec la diminution des défenses de l'organisme. La tuberculose est toujours responsable d'une morbidité et d'une mortalité importante, particulièrement dans les pays en voie de développement. Longtemps considérée comme en voie de disparition dans les pays développés, elle est l'objet d'une attention renouvelée en raison d'une part d'une augmentation de son incidence dans les zones où l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) sévit et dans les grandes métropoles où les conditions socioéconomiques ne sont pas satisfaisantes ; et d'autre part de l'accroissement du nombre de souches multirésistantes de bacilles tuberculeux.[5]

2.2.2. Taxonomie.

Les mycobactéries constituent une vaste famille (mycobacteriaceae) des bactéries comportant un seul genre : le genre mycobacterium.

Il s'agit de bacille acapsulé, asporulé, et immobile. Dont la mise en évidence ne peut se faire par la technique de coloration de gram, en revanche colorés à chaud par la fuschine. Elles retiennent ce colorant malgré l'action conjuguée d'un acide dilué et d'alcool. Après sur coloration par le bleu de méthylène ; les mycobactéries apparaissent rouge sous fond bleu c'est la coloration de Ziehl-Neelsen qui met en évidence la propriété fondamentale des mycobactéries liée à l'abondance des lipides de la paroi, l'acido-alcool-résistance (AAR).

Le genre *Mycobacterium* comprend de nombreuses espèces :

- Espèces *tuberculosis* ou complexe *tuberculosis* qui se subdivise en trois sous espèces et dont l'homologie ADN-ADN est supérieure à 80%.

Mycobacterium tuberculosis sensu stricto ou bacille de KOCH (BK), pathogène spécifique strict de l'espèce humaine mais pouvant infecter les animaux vivants en contact de l'homme (chien, chat, singe, perroquet....) qui est l'agent de la tuberculose humaine.

- *Mycobacterium africanum* pathogène strict de l'espèce humaine proche de *Mycobacterium tuberculosis* et qui est fréquemment isolé des cas de tuberculose en Afrique de l'ouest et central.
- *Mycobacterium bovis* pathogène spécifique strict des bovidés mais pouvant infectés l'homme et d'autres animaux.
- Espèce *leprea* ou *Mycobacterium leprea* ou bacille de Hansen, pathogène spécifique strict de l'espèce humaine qui est l'agent de la lèpre.
- Espèce saprophytes ou commensales, nombreuses, dites mycobactérie atypique responsable d'infection humaine opportuniste l'une d'entre elle *Mycobacterium avium* responsable de la tuberculose aviaire. [6]

2.2.3. Caractères généraux.

Le genre *mycobacterium* est constitué de bacilles fins, non colorables par la méthode de Gram, aérobies stricts et immobiles. Les mycobactéries sont caractérisées par :

- **L'acido-alcoolo-résistance**, propriété tinctoriale mise en évidence par la coloration de Ziehl-Neelsen ou la coloration en fluorescence à l'auramine. Les bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) restent colorés malgré un lavage par une solution décolorante d'acide-alcool. Cette propriété est liée à la grande quantité de lipides de leur paroi.

- **La lenteur de leur multiplication.** Les espèces dont la croissance est la plus rapide ne se développent sur un milieu gélosé qu'en 2-3 jours. *Mycobacterium tuberculosis* se développe en trois semaines sur le milieu le Löwenstein-Jensen. [7]

2.2.4. *Mycobacterium tuberculosis*.

Pathogène spécifique de l'homme mais capable d'infecter certains espèces animales vivant a ces cotés. Il n'est pas présent dans l'environnement sauf en cas de contamination accidentelle de l'homme infecté. Très sensible à la chaleur, lumière solaire, rayon X e UV. Il résiste bien au froid et à la dessiccation et peut demeurer vivant plusieurs jours dans des produits contaminés (expectoration). Peu sensible a de nombreuses agent chimique tel que les acides et les bases diluées ou détergent divers. En revanche il est rapidement tué par l'alcool dilué à 70°.

- Morphologie : coloré selon la méthode de Ziehl Neelsen *Mycobacterium tuberculosis* ou BK est un bacille fin, légèrement incurvé de 2 à 5 µm de long sur 0,2 à 0,3 µm de large. Ses extrémités sont arrondies, isolé ou en groupe en amas cordes et torsades.
- Caractères culturaux : *Mycobacterium tuberculosis* est une bactérie à croissance lente (temps moyen de diffusion= 20 heures), aérobie strict, la diminution de l'apport en oxygène entrave sa culture. Cette particularité joue in vivo un rôle décisif dans l'arrêt de la multiplication au sein des lésions caséeuses. La température optimale de croissance est de 35° à 37°C. Au-dessous de 30°C et au-dessus de 41°C, la croissance est totalement inhibée. Le pH des milieux de culture peut être compris entre 4,8 et 8 avec un optimum légèrement au-dessous de la neutralité : 6,7.

Mycobacterium tuberculosis ne se développe par sur milieux usuel. Le milieu d'isolement de choix est celui de Löwenstein-Jensen à l'œuf coagulé. Sur le

milieu, les colonies sont visibles au bout de 2 à 4 semaines. Elles sont caractéristiques, verruqueuses, rugueuses de couleur crème beige.

- Structure antigénique : la structure antigénique est complexe
- Les lipides : représente 60% des constituants de la paroi une proportion importante de ces lipides sont des acides mycoliques et des cires. Ils sont responsables au moins en partie de l'acido-alcool-résistance et de la relative résistance aux agents chimique.
- Les polysaccharides : jouent un rôle important dans la formation d'anticorps circulant. Ce sont eux qui confèrent la spécificité immunologique.
- Les protéines : sont le support de l'activité tuberculique elles sont encore imparfaitement connues.

➤ **Diagnostic biologique.**

- **Diagnostic direct.**

- ❖ **Prélèvements** : il faut répéter les prélèvements et les effectuer avant la mise route d'une antibiothérapie qui peut supprimer toute possibilité d'apporter la preuve de la maladie.

En cas de suspicion de tuberculose pulmonaire si le sujet crache on recueille les crachats autant que possible le matin au réveil si le sujet ne crache pas, on procède à un tubage gastrique qui a pour but de recueillir les mucosités bronchique déglutie pendant le sommeil. Eventuellement ont recueille les mucosités bronchique par fibroscopie (aspiration, bossage, et ou lavage broncho-alvéolaire). Il est également recommandé de recueillir des crachats ou d'effectuer des tubages gastriques les trois jours suivant une fibroscopie.

- ❖ **Examen microscopique** : les frottis sont colorés pour une flore non associée (LCR, liquide pleural) peuvent êtreensemencés directement les produits contenant une flore associée doivent subir une décontamination préalable.

❖ **Culture** : Seule la culture, suivie de l'identification d'espèces par étude des caractères biochimiques ou génétique (par hybridation avec sondes spécifique d'espèce) permet de porter un diagnostic de certitude elle sera complétée par un antibiogramme qui permet de détecter une résistance à un ou plusieurs antibiotiques.

- **Diagnostic indirect.**

Il n'y a pas de diagnostic indirect (sérologie) de la tuberculose qui ait apporté la preuve de sa fiabilité.

On peut tout de même rechercher l'hypersensibilité cutanée à la tuberculine. L'épreuve recommandée est l'IDR. Sa positivité indique que le sujet a déjà fait sa primo infection.

➤ **Modalité du traitement curatif**

Le traitement de la tuberculose est bien codifié. Il est basé sur l'administration orale en une seule prise de l'association d'isoniazide, de rifampicine et de pyrazinamide (Rifater®) pendant les deux premiers mois, avec adjonction d'éthambutol s'il s'agit d'une rechute ou en cas de résistance suspectée et la poursuite du traitement d'isoniazide et rifampicine (Rifinah®).

La durée totale du traitement est de six mois pour une tuberculose pulmonaire, neuf mois pour une tuberculose ganglionnaire, douze mois pour une tuberculose osseuse ou méningée. [7]

3. METHODOLOGIE :

3.1. Cadre de l'étude.

Notre étude a été dans le laboratoire du centre de santé de référence situé en plein cœur de la commune IV à Lafiabougou. Ce centre d'abord PMI (Protection Maternelle et Infantile) créée en 1981, a été érigé en CS Réf en juin 2002 pour répondre aux besoins sanitaires de la commune.

Le centre comporte plusieurs unités :

- Une unité de médecine générale ;
- Une unité de chirurgie ;
- Une unité d'oto-rhino-laryngologie ;
- Une unité de pédiatrie ;
- Une unité d'ophtalmologie ;
- Une unité de dispensation des antituberculeux ;
- Une unité d'odontostomatologie ;
- Une unité de laboratoire d'analyses ;
- Une pharmacie ;
- Une unité d'hygiène ;
- Une unité de consultation prénatale (CPN) et planning familial (PF) ;
- Une unité de gynécologie et d'obstétrique ;
- Une unité d'action sociale ;
- Une unité de soin d'animation et de conseils (USAC) des PVVIH.

Le centre de santé de référence emploie comme personnel référents :

- 2 pharmaciens

- 15 médecins
- 7 infirmiers diplômés d'état
- 17 sages femmes
- 15 assistants médicaux
- 24 techniciens de santé
- 4 comptables
- 5 chauffeurs
- 15 gardiens et manœuvres
- 2 lingères.

3.1.1. Le laboratoire d'analyses médicales.

Le laboratoire est constitué :

- Une salle de prélèvement
- Une salle d'analyse
- Une salle de garde

Comme équipements au niveau du laboratoire nous avons :

- 2 réfrigérateurs pour les réactifs
- 2 congélateurs
- 2 centrifugeuses
- 2 microscopes optiques
- 1 appareil de biochimie (AWARENEES TECHNOLOGY®)
- 1 automate pour hématologie (MICROS® 60)
- 1 appareil pour taux d'hémoglobines et d'hématocrites

- 1 stérilisateur
- 1 armoire pour les documents.

Le laboratoire a comme personnel :

- 2 assistants biologiste
- 2 techniciens supérieurs
- 2 techniciens de santé.

Ce personnel est chargé de mener les activités suivantes :

- Des analyses en biochimie (glycémie, créatinine, transaminase, uricémie, albumine sucre)
- Des analyses en immunologie (BW, toxoplasmose, Widal, groupage rhésus, sérologie d'hépatites virale B, sérologie HIV).
- Des analyses en hématologie (NFS, test d'Emmel, taux d'hémoglobines et d'hématocrites).
- Des analyses en parasitologie (GE et frottis, POK).
- Des analyses en bactériologie (recherche de BAAR, ECBU, PV).

3.2. Population d'étude

Notre population d'étude était constituée par tous les patients référés au laboratoire pour un diagnostic de la tuberculose, parce qu'ils sont malades (hospitalisés ou non).

3.3. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale, rétrospective(2009) et prospective(2010) descriptive pour le diagnostic de la tuberculose chez les patients malades (hospitalisés ou non), référés au laboratoire du CS réf CIV.

3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion

3.4.1. Critères d'inclusion

Sont inclus dans notre étude tous les patients venant au laboratoire pour un diagnostic de la tuberculose, en interne (hospitalisés) ou en externe, du CS réf CIV

3.4.2. Critères de non inclusion

N'était pas inclus dans notre étude tout patient qui se présente sans demande établie au préalable par un médecin

3.5. Aspects éthiques

3.5.1. Confidentialité

Les noms des patients ne figurant pas dans l'étude, l'anonymat a été respecté.

3.5.2. Risques liés à l'étude :

Les malades ont été informés des risques qu'ils courent en faisant le diagnostic.

3.5.3. Respect des références bibliographiques

Les textes des références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modifications. La propriété intellectuelle des auteurs de nos références bibliographiques a été respectée.

3.6. Échantillonnage

3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage

L'échantillonnage utilisé dans cette étude était exhaustif. Il concernait l'ensemble des patients référés au laboratoire pour un diagnostic dans le cadre d'un bilan systématique ou pour une confirmation de diagnostic d'une tuberculose pendant la période d'étude.

3.6.2. Taille de l'échantillon

Durant la période d'étude allant du 1^{er} janvier 2009 au 31 décembre 2009, l'effectif des personnes dépistées au laboratoire a été de 1945 patients qui ont constitué notre échantillon.

3.6.3. Variables étudiées

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés ont été les suivants : Age, sexe, service de référence, qualité expectoration, raison examen, résultats

3.6.4. Collecte des données.

Les renseignements ont été recueillis à partir des registres de données du laboratoire.

3.6.5. Saisie et analyse des données.

Les données ont été saisies, traitées et analysées sur SPSS (version 12.0) pour Windows.

Word 2007 a été utilisé pour le traitement de texte.

Microsoft Excel –Logi-Evaluat-labo.xls a été utilisé pour évaluer le laboratoire.

Pour l'évaluation du laboratoire nous avons choisi une grille d'intervalle pour apprécier les paramètres étudiés :

<50% c'est insuffisant,

De 50 à 69% c'est passable,

De 70 à 79% c'est assez bon,

De 80 à 100% c'est bon.

3.7. Conditions de sécurité au laboratoire

- port de gant et blouse,
- eau de javel pour effluents (sérum – lavage),

- pas de contact des substrats avec la peau,
- nettoyage des paillasses à l'eau de javel puis à alcool à 70°,
- utilisation de 2 sortes de poubelles :
 - * une pour cartons d'emballage, papiers...
 - * une pour déchets contaminés pour incinération,
- élimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux),
- lavage des mains avant de quitter le labo,
- toute plaie doit être protégée (pansement),
- blessures avec sang :
 - * nettoyage à l'eau de javel et au savon,
 - * rinçage,
 - * désinfection avec l'alcool à 70° pendant 3 minutes ou eau de Javel diluée au 1/10,
- projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique),
- la mise à la disposition de médicaments anti- tuberculeux pour le personnel de l'hôpital en cas de risque important doit être réfléchi en fonction des disponibilités.

3.8 Optimisation des conditions opératoires

- Avant l'utilisation du kit :
 - * laisser équilibrer les réactifs d'un KIT 10 pendant 30 minutes à la température ambiante (se conformer aux recommandations du fabricant),
 - * vérifier que le kit n'a pas atteint la date de péremption,
 - * ne jamais mélanger les réactifs de lots différents.
- Pendant l'utilisation du kit :
 - * respecter les dilutions et temps d'incubation,
 - * s'assurer que la verrerie a bien été rincée à l'eau distillée avant utilisation puis séchée.

3.9. Méthode de laboratoire

PROCEDURE DE TESTS DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE

Phase pré analytique :

- Identification du patient
- Vérification de la demande d'examen
- Enregistrement du patient (nom et prénoms, âge, sexe, résidence, profession, ethnie, autres renseignements si besoin)
- Choix des matériels de prélèvement (pots pour crachat, lame pour bacilloscopie)
- Identification des matériels de prélèvement
- Prélèvement proprement dit
- Confection des frottis

Phase analytique :

Exécution des modes opératoires (1.confection, séchage et fixation des frottis 2. Coloration des frottis 3. Lecture et interprétation)

Phase post analytique :

- vérification des résultats des contrôles de qualité et des résultats du patient
- Validation technique /analytique des résultats par le technicien
- Validation biologique des résultats par le biologiste
- Exploitation des résultats, enregistrement
- Conservation des prélèvements
- Rendu des résultats aux prescripteurs/clients
- Archivage des résultats
- Gestion des déchets biomédicaux

3.9.1. Principes - Indications

Les mycobactéries sont des bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) qui sont mis en évidence par examen microscopique après coloration par la technique de Ziehl Nelsen. Diagnostic chez un patient suspect de tuberculose pulmonaire.

3.9. 2. Prélèvements

Recueil de crachats selon le mode opératoire de recueil de crachats.

L'agent de santé doit :

- Mettre le malade en confiance en lui expliquant le motif de l'examen, l'importance de s'efforcer à donner une bonne expectoration,
- lui montrer comment tousser afin que l'expectoration vienne du plus profond possible
- le recueil s'effectuera à l'air libre ou dans une pièce bien ventilée,
- contrôler la quantité et la qualité de l'expectoration obtenue.

Trois échantillons de crachat sont prélevés pour le diagnostic :

- ❖ Après le premier entretien au laboratoire, un échantillon est recueilli sur place.
- ❖ Un deuxième crachoir sera remis au malade en lui expliquant de donner le matin un crachat dès son réveil après s'être rincé la bouche et de le ramener au laboratoire.
- ❖ A son arrivée au laboratoire un autre crachoir lui sera remis pour le recueil du troisième crachat sur place.

Celui-ci doit avoir un volume de 3 à 5 ml et contenir des particules solides ou purulentes.

Si la quantité de crachat est insuffisante, encourager le malade à recracher.

Si le malade n'arrive pas à cracher, il faut considérer le crachoir ayant déjà servi et par conséquent, selon sa nature le détruire ou le mettre à la stérilisation.

Dans ce cas on lui remettra un autre crachoir stérile en s'assurant qu'il a bien compris la manière de recueillir ses crachats et en lui recommandant de mettre des expectorations le matin au réveil dans le crachoir et l'apporter au centre de

santé. Il faut lui montrer en ce moment comment il faut fermer le crachoir de manière étanche et lui conseiller de ne pas agiter le flacon au cours du transport.

Par contre si au cours de l'opération de recueil le malade a pu donner un échantillon valide tant pour la quantité que pour la qualité, l'agent de santé se chargera de fermer hermétiquement le crachoir et de le porter au laboratoire

3.9. 3. Matériel et Réactifs

3.9. 3.1. Matériel

- microscope binoculaire électrique.
- lampe à alcool ou un bec Bunsen
- bac de coloration
- portoir/râtelier pour lames pour le séchage (en bois ou plastique)
- pissettes de coloration (en plastique avec un bec verseur)
- entonnoirs en plastique
- papier filtre
- crachoirs
- anse de nickel chrome.
- lames porte objet
- pince
- crayon diamant ou marqueur
- minuterie
- flacon contenant du sable avec de l'alcool qui dépasse les sable environs 1 à 2 cm
- poubelle munie d'un sachet plastique pour jeter le matériel contaminé destiné à l'incinération.

3.9. 3.2. Réactifs

- **Solution de fuschine phéniquée à 1 %**

Fuschine basique 10 g

Phénol 50 g

Alcool 100 ml

Eau distillée QSP 1000 ml

- **Solution de décoloration à 25 %**

Alcool 90 750 ml

Acide chlorhydrique 250 ml

- **Solution de bleu de méthylène à 0,3 %**

Bleu de méthylène 10 g

Eau distillée 3000 ml

- **Huile à immersion**

3.9. 4. Mode opératoire

3.9. 4.1. Confection des frottis

- utiliser des lames neuves
- identifier les lames en écrivant les numéros avec le crayon diamant
- Vérifier que le numéro sur la lame est le même que celui du crachoir.
- Flamber l'anse, laisser refroidir ouvrir le crachoir avec précaution
- prélever à l'aide de l'anse une parcelle solide et caséuse du crachat (le résultat de l'examen dépend essentiellement du choix de la particule sur laquelle on fera le frottis) ;
- Déposer la parcelle sur la lame et l'étaler sur une surface d'environ 1cm x 2cm tout en évitant les bords de la lame
- Etaler en faisant des mouvements circulaires et distribuer de manière homogène l'échantillon sur la lame
- après chaque étalement plonger l'anse dans le flacon contenant sable et l'alcool pour décharger les particules de crachats restées accrochées à l'anse
- puis chauffer l'anse jusqu'à rougir avant la confection d'un autre frottis
- Le frottis doit être mince et non épais

NB : On doit pouvoir lire les écritures d'un papier journal à travers un bon frottis

3.9. 4.2. Séchage des frottis

- Laisser sécher le frottis à l'air libre sur une surface plane ou dans une boîte de séchage type OMS, pendant 15- 30 mn. Ne jamais sécher les frottis à la flamme.

3.9. 4.3. Fixation des frottis

- fixer le frottis après un séchage adéquat
- Prendre la lame à l'aide d'une pince, frottis tourné vers le haut, et la faire passer à trois reprises, au dessus de la flamme du bec Bunsen ou de la lampe à alcool (pendant 3 à 5 secondes).
- Les frottis fixés (ou non fixés) se conservent longtemps, par exemple pour servir de contrôles positifs.

NB : faire attention à la conservation des frottis non fixés qui restent contagieux.



Figure N°1. Frottis bien identifié et bien étalé

3.9. 4.4. Coloration des frottis

La technique de coloration de choix du programme est celle de Ziehl Neelsen à chaud :

- La fuschine, qui est un colorant basique, colore la paroi des mycobactéries en rouge.
 - L'alcool décolore les autres éléments non acido-alcool-résistants (cellules épithéliales, leucocytes et autres bactéries)
 - Le bleu de méthylène colore le fond du frottis en bleu.
 - Les BAAR vont apparaître en rouge sur fond bleu.
1. Couvrir en totalité les lames de fuschine phéniquée à 1% filtrée.
 2. Chauffer avec la flamme d'une lampe alcool ou d'un coton enroulé au bout d'une tige imbibé d'alcool et enflammé jusqu'à l'émission de vapeurs tout en évitant de bouillir le colorant. Répéter le chauffage toutes les 3 minutes (3 fois au total.). Utiliser la minuterie.
 3. Laisser agir le colorant 10 minutes.

4. Rincer avec de l'eau courante
5. Couvrir par le mélange alcool-acide et laisser agir pendant 3 minutes.
6. Rincer avec de l'eau courante (si le frottis reste mal décoloré, c'est-à-dire rougeâtre, répéter l'étape de décoloration en couvrant à nouveau la lame par le mélange alcool-acide et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau courante).
7. Couvrir par le bleu de méthylène à 0,3 % et laisser agir pendant 1 minute.
8. Rincer à l'eau courante
9. Laisser sécher les frottis ainsi colorés à l'air libre, disposés sur un râtelier en position inclinée.

3.9. 4.5. Lecture et Interprétation des résultats

➤ Lecture

La lecture se fait avec un microscope optique binoculaire à l'objectif 100 x à immersion. On compte systématiquement le nombre de BAAR dans chaque champ. Les BAAR vont apparaître en rouge sur fond bleu comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés et plus ou moins granuleux, isolés ou groupés.

- Faire la lecture en suivant la longueur du frottis. Si la longueur du frottis est de 2cm, elle compte environ 100 champs microscopiques
- Lire au plus 100 champs avant de rendre un résultat, lorsqu'il s'agit d'un échantillon positif et au moins 300 champs (trois longueurs) lorsqu'il s'agit d'un échantillon négatif.

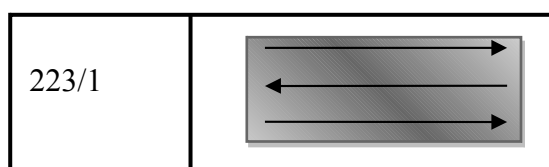


Figure N°2. Méthode de lecture d'une lame

➤ **Enregistrement des résultats**

Dans les colonnes résultats mettre Neg pour les résultats négatifs.

Pour les résultats positifs, mettre dans les colonnes résultats le nombre de « + » correspondant à la richesse du frottis en BAAR (ex : 2+) et dans la colonne commentaires, le nombre de BAAR observés par nombre de champ (ex : 25 BAAR/ 100 champs).

Inscrire dans le registre tous les résultats positifs en rouge : nombre de BAAR observés par champ et nombre de « + ».

➤ **Interprétation des résultats**

Les résultats sont interprétés suivant l'échelle qui suit :

- 0 BAAR dans 300 champs Négatif
- 1 à 9 BAAR dans 100 champs positifs faibles ou « Rares BAAR »
- 10 à 99 BAAR dans 100 champs positifs 1+
- 1 à 10 BAAR par champ sur 50 champs positif 2+
- >à 10 BAAR par champ sur 20 champs positif 3+

3.9. 4.6. Dégraissage des frottis lus

Eliminer l'excès d'huile des lames en les maintenant en position inclinée sur du papier absorbant ou une compresse avant de les ranger dans la boîte de rangement.

3.9. 4.7. Conservation des frottis

Ranger les lames dégraissées dans les boîtes de rangement des lames.

Garder toutes les lames, positives et négatives ensemble, dans la boîte de rangement suivant.

3.9.5. Hygiène et Sécurité

Le technicien doit observer rigoureusement les consignes d'hygiène et de sécurité. Il est responsable de sa propre sécurité et de celle des autres.

- le laboratoire doit être propre, aéré et la ventilation dirigée vers l'extérieur.
Pour les laboratoires ne remplissant pas cette condition de ventilation, il faut installer un ventilateur extracteur.

- le technicien doit maintenir le laboratoire propre et éviter l'entrée des insectes. A cet effet les portes et fenêtres doivent être maintenues fermées ou grillagées (moustiquaires).
- une fois dans le laboratoire le technicien portera une blouse propre.
- la blouse sera utilisée exclusivement à l'intérieur du laboratoire.
- le recueil des crachats se fera à l'extérieur du laboratoire et à l'air libre.
- le technicien portera des gants pour manipuler les crachats au moment de la collecte.
- Il manipulera les crachats contenant les crachats avec précaution, notamment à l'ouverture.
- il disposera d'un flacon contenant du sable et de l'alcool pour nettoyer l'anse, entre deux étalements, avant de la flamber, lors de la confection des frottis.
- il se lavera fréquemment les mains au savon après chaque manipulation.
- il lui est interdit de manger, de boire ou de fumer dans le laboratoire ou de garder la nourriture et l'eau dans le réfrigérateur du laboratoire.
- les crachats utilisés seront jetés dans une poubelle contenant un sac plastique que le technicien fermera à la fin de chaque jour et seront incinérés.
- il doit nettoyer les paillasse après chaque journée de travail avec l'eau de Javel

12 °Cl diluée au 1/6 et ranger tout le matériel encombrant.

3.9.6. Bonnes Pratiques de laboratoire appliquées à l'examen des crachats

- utiliser des lames neuves
- recueillir des crachats purulents, mucopurulents ou striés de sang
- identifier avec précision les crachats, les lames et les formulaires d'examen
- vérifier la correspondance des numéros entre le crachat et la lame à la confection des frottis et entre la lame et dans le cahier de paillasse à la lecture.
- faire des frottis minces de 2cm x 1cm
- vérifier la qualité des frottis en lisant les écritures à travers

- décharger l'anse dans le flacon de sable plus alcool après chaque étalement avant flamage
- utiliser de la fuschine phéniquée filtrée au moment de la coloration
- écarter les lames les une des autres pendant la coloration (elles ne doivent pas se toucher)
- colorer les frottis par la technique à chaud
- ne pas laisser la fuschine phéniquée sécher sur les lames
- ne pas faire bouillir la fuschine phéniquée sur les lames
- ne pas toucher le frottis avec le bout du flacon d'huile à immersion
- ne pas toucher le frottis avec l'objectif 100 x
- lire au moins 300 champs avant d'interpréter un résultat négatif
- lire au plus 100 champs pour un résultat positif
- écrire le même jour les résultats dans un cahier de paillasse au moment de la lecture, puis dans le registre pour éviter les erreurs administratives.
- Sur le cahier de paillasse écrire les résultats en nombre de BAAR par nombre de champs microscopiques.
- Contrôler systématiquement la qualité de tout nouveau lot de colorants et écrire le résultat dans le cahier de CQ
- Contrôler hebdomadairement la qualité des colorants entamés et écrire le résultat dans le cahier de CQ
- Entretenir le microscope et noter pour chaque entretien la date et le type d'entretien dans un cahier.

4. RÉSULTATS.

4.1. Évaluation de la structure du laboratoire.

TABLEAU N° I : bâtiments, fluides et généralités

bâtiments, fluides et généralités.....	72%
Conditions du bâtiment.....	83%
Approvisionnement en fluides.....	60%
% de pièces techniques utilisées.....	100%
Nombre de pièces techniques (niveau dépendant).....	100%
Possibilité de communication.....	20%
Couverture des maladies infectieuses.....	67%

Les conditions générales du bâtiment étaient à 72% avec une possibilité de communication de 20%

TABLEAU N° II : Biosécurité et hygiène

biosécurité et hygiène.....	80%
Utilisation de moyens protections.....	50%
Procédures en biosécurité.....	88%
Formations en biosécurité.....	100%
Conditions de biosécurité.....	75%
Sécurité des l'équipement.....	50%
Elimination des déchets.....	100%
Documentation en biosécurité.....	100%

La biosécurité et l'hygiène sont assurées à 80% au laboratoire. Parmi les paramètres étudiés, la formation en biosécurité, l'élimination des déchets et la documentation en biosécurité sont les plus satisfaisants (100%). Les procédures en biosécurité et les conditions de biosécurité respectivement sont assurées à 88% et 75%. L'utilisation de moyens protection et la sécurité des équipements sont assurées à 50%

TABLEAU N° III : Prélèvements et hygiène

Prélèvements et hygiène.....	59%
Qualité des prélèvements reçus.....	50%
Procédures de prélèvement.....	83%
Qualité du formulaire de demande d'examen.....	80%
Esprit critique vis-à-vis des prélèvements.....	100%
Qualité des registres.....	78%
Examen macroscopique.....	50%
Devenir des spécimens.....	100%
Qualité de la traçabilité des spécimens.....	80%

Les prélèvements et l'hygiène sont assurés à 59%, Le devenir des spécimens est assuré à 100%.

TABLEAU N° IV : Réactifs et approvisionnement

réactifs et approvisionnement.....	68%
Préparation de réactifs maison.....	100%
Qualité de la gestion des réactifs.....	60%
Disponibilité de fonds pour les réactifs.....	0%
Utilisation de réactifs périmés.....	50%
Disponibilité de colorants basiques	100%
Disponibilité de colorants spécifiques	100%
Disponibilité de milieux de transport.....	100%
Disponibilité de milieux de culture	0%
Disponibilité de réactifs pour sérologie	100%

L'approvisionnement en réactif assuré à 68%, le laboratoire n'effectue pas de culture d'où l'absence de milieu de culture

TABLEAU N° V : Qualité totale

qualité totale.....	91%
Disponibilité de procédures d'analyse.....	100%

Présence de contrôle de qualité interne.....	90%
Participation à un contrôle de qualité externe.....	100%
Présence de relevés de températures.....	67%
Qualité de la maintenance préventive.....	80%
Réparation et réglage des instruments.....	100%
Disponibilité de documentation et de pièces détachées.....	100%

La qualité totale du laboratoire est assurée à 91%

TABLEAU N°VI : Rapports, analyse et communication

rapports, analyse et communication.....	85%
Présence de rapports sur les maladies.....	60%
Présence de rapports d'activité.....	75%
Présence de rapports d'activité électroniques.....	100%
Possibilité de référer les échantillons.....	100%
Existence de supervision du laboratoire.....	100%
Qualité de la collaboration laboratoire / laboratoires	75%

Les rapports, analyse et communication sont assurés à 85%. Dans le cadre de la supervision du laboratoire, le Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT) assure cette mission.

TABLEAU N° VII : EQUIPEMENTS

Désignation	Quantité disponible
Autoclave	0
Balance de précision	1
Bain marie	1
Centrifugeuse	2
Congélateur -20° c	1
Congélateur – 70°c	0
Connexion internet	0
Distillateur	1
Appareil pour électrophorèse	0
Four	1
Générateur de secours	0
Incubateur CO ₂	0
Incubateur de grosse taille	0
Incubateur de petite taille	0
Machine à lavé	0
Ordinateur+ imprimante	1
Réfrigérateur	1
Microscope binoculaire	2
Moyenne	50%

TABLEAU N°VIII : Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les appréciations

PARAMETRES	TAUX	APPRECIATIONS
Bâtiment, fluides et généralités	72%	Assez Bon
Biosécurité et hygiène	80%	Bon
Prélèvement et hygiène	59%	Passable
Équipements	50%	Passable
Réactifs et approvisionnement	68%	Passable
Qualité totale	91%	Bon
Rapports analyses et communications	85%	Bon
MOYENNE GÉNÉRALE	72%	Assez Bon

Ce tableau nous donne une idée générale sur l'assurance qualité au laboratoire du centre de santé de référence en fonction des paramètres évalués dont la moyenne est de 72% dans le diagnostic de la tuberculose.

Source: logi-Evaluat-labo.xls

4.2. Nombre d'examens microscopiques effectué au laboratoire.

Du 1^{er} janvier 2009 au 31 décembre 2009, l'effectif des patients dépistés au laboratoire a été de 1945 patients.

TABLEAU N° IX : Nombre d'examens microscopiques selon le sexe.

Sexe	Fréquence	Pourcentage	Pourcentage cumulé
F	765	39,3%	39,3
M	1180	60,7%	100,0
Total	1945	100,0	

Le sexe ratio est de 1,5

TABLEAU N°X : Nombre d'examen microscopique selon la provenance.

Provenance	Fréquence	Pourcentage
C II	4	0,2%
C III	6	0,3%
C IV	1804	92,8%
C V	2	0,1%
CNAM	19	1%
HGT	42	2,2%
HPG	53	2,7%
INPS	12	0,6%
KATI	3	0,2%
Total	1945	100

Malgré que 92,8% des patients résident à la commune IV le laboratoire reçoit des malades venant des autres structures de santé de la ville.

4.3. Résultat de la microscopie.

TABLEAU N°XI : Résultat de la microscopie durant la période d'études

Résultat	Fréquence	Pourcentage
Négatif	1739	89,4%
Positif	206	10,6%
Total	1945	100,0

Durant la période d'étude on a eu 206 cas positif soit 10,6% de l'échantillon

TABLEAU N°XII : Résultat de la microscopie selon le sexe

Effectifs	Résultats		Total
SEXE	Négatif	Positif	
F	707	58	765
M	1032	148	1180
Total	1739	206	1945

TABLEAU N°XIII : Résultat de la microscopie selon l'âge des patients

AGE	RESULTAT1		Total
	Négatif	Positif	
0 -15	96	3	99
16- 25	377	53	430
26- 35	376	66	442
36- 45	287	41	328
46- 55	218	17	235
56 -plus	385	26	411
Total	1739	206	1945

On remarque ici que la tranche d'âge 26-35 ans est la plus touché par la tuberculose.

TABLEAU N°XIV : Résultat de la microscopie selon la raison d'examen.

Raison examen	Résultat		Total
	Négatif	Positif	
Nouveau	1429	178	1607
Suivi	310	28	338
Total	1739	206	1945

TABLEAU N°XV : Résultat de la microscopie selon l'expectoration.

Expectoration	Résultat		Total
	Négatif	Positif	
Muqueux	1670	37	1707
Purulent	48	169	217

	Salivaire	21	0	21
Total		1739	206	1945

5. COMMENTAIRE ET DISCUSSION.

5.1. Evaluation du laboratoire.

5.1.1. Présentation physique du laboratoire.

Le laboratoire du centre de référence de la commune IV est conforme à un schéma d'aménagement permettant la réalisation de la microscopie de la tuberculose, et répond aux critères de bonne organisation.

5.1.2. Matériel.

Les matériels sont majoritairement disponibles.

5.1.3. Préparation des colorants.

La préparation des colorants est conforme à la formule de Ziehl Neelsen à chaud. Cette formule est recommandée par le PNLT.

5.2. Recueil des crachats.

Les différents éléments retenus pour le recueil des crachats sont disponibles dans le laboratoire du CS Réf de la commune IV.

Le CS Réf réfère les malades en premier lieu au laboratoire, Les crachoirs sont remis aux malades par les techniciens, Ces crachoirs sont adéquats, et Quant aux crachoirs souillés, ils sont incinérés. Le laboratoire dispose d'un endroit pour cracher. Cet endroit est situé à l'extérieur, dans la cour en dehors du laboratoire.

5.3. Résultats de la lecture des lames.

Dans le centre, les résultats sont enregistrés dans un registre standardisé. Le suivi bactériologique est fait Sur les 8 mois que durent le traitement le suivi est effectué à 2 mois du début du traitement, à 5 mois de traitement et à la fin du traitement (huitième mois).

5.4. Bio sureté et Biosécurité.

Il est recommandé de porter obligatoirement la blouse, laver les mains et les tremper dans l'alcool à 70°. Le PNLT ne recommande pas l'utilisation des gants. Il n y a pas de protocole en cas d'accident générant des Aérosols au niveau du laboratoire. Les désinfectants sont disponibles, Les matériels contaminés sont incinérés adéquatement. Les paillasses sont nettoyées quotidiennement après le travail. Les poubelles contenant les crachoirs sont vidées quotidiennement.

5.5. Prise en charge et suivi des malades.

Il est recommandé que pour les deux premiers mois, les agents de santé s'assurent que les médicaments sont bien administrés tous les jours. Au niveau du centre il existe un système de surveillance des patients à des intervalles réguliers jusqu'à leur guérison.

Les malades perdues de vue sont recherchées.

La fréquence à laquelle les médicaments sont remis aux malades est la suivante :

- Pour les deux premiers mois les médicaments sont donnés une fois par semaine.
- Pour plus de deux mois de traitement, on donne la dotation mensuelle.

Les patients proches du centre y passent tous les jours pour l'administration des médicaments.

Pour les patients lointains, les médicaments leurs sont donnés hebdomadairement avec insistance sur leur prise.

La présente étude qui a porté sur la contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic de la tuberculose au laboratoire du centre de santé de référence de la commune IV a concerné 1945 patients reçus de janvier à décembre 2009. Cette étude sur l'assurance qualité dans le diagnostic de la tuberculose a été faite sur la base d'un traitement manuel, de saisies sur Word, de données enregistrées dans le logiciel SPSS et les variables comme le sexe, la provenance, et la raison d'examen ont été croisés avec le résultat des patients.

Les résultats de cette étude qui a porté sur 1945 patients reçus durant la période indiquée permettent d'avoir une image relativement claire du diagnostic au laboratoire du CS réf C IV. Notre étude ne saura être extrapolée à la population générale de Bamako pour un certain nombre de raisons qui sont :

1. La taille de l'échantillon n'est pas représentative de l'ensemble du District de Bamako ;
2. Le laboratoire du CS réf C IV n'est pas le seul centre de diagnostic du District de Bamako ;
3. Le Laboratoire reçoit des malades hospitalisés, des malades venant des autres structures de santé de la ville.

L'étude sur La contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic de la tuberculose est une action continue basée sur le diagnostic dans le cadre du bilan de santé lors des consultations médicales.

Ceci est d'autant plus important que la qualité de vie et le nombre d'années de vie gagnées pour la personne contaminée est meilleur. Sur le plan de la santé publique, la connaissance du statut a un impact positif sur les comportements à risques et réduit les frais médicaux grâce à une prise en charge plus précoce. Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de la situation de la tuberculose dans les formations sanitaires. Sur un échantillon total de 1945 patients, il a été enregistré 206 cas positif, soit 10,6 % de l'échantillon.

Les négatifs représentent 1739 patients soit 89,4% ce qui nous appelle les commentaires ci-dessous :

- L'insuffisance du plateau technique ne permet pas toujours de porté le diagnostic comme décrit dans le travail de TRAORE B.Y portant sur les aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie négative au service de Pneumo-phtisiologie de l'hôpital du point« G ». [13]
- L'examen direct des crachats reste l'examen de choix pour le diagnostic à cause de son accessibilité.

5.6. Du point de vue de la méthode.

La démarche qualité dans notre laboratoire a permis la mise en œuvre d'un ensemble de dispositions préétablies et systématiques destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité et qui tournent autour des points suivants:

- Assurance de la Qualité (AQ) : Ensemble des processus qui garantissent que les résultats finaux rendus par le laboratoire sont aussi exacts que possible. Ceci nécessite un contrôle des prélèvements, une élaboration des MON (Modes Opératoires Normalisés) ou des SOPs (Standard Operating Procedures) une révision des procédés de transcription, l'utilisation des tests les plus fiables et la vérification des comptes rendus des résultats ;

- Contrôle de Qualité (**CQ**) : Comprend les mesures qui doivent être prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier qu'elle se déroule correctement. Ceci comprend la vérification des conditions de température correctes, de l'existence de témoin de contrôle, etc. Ce CQ indique si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables. Le contrôle de qualité n'indique pas ce pendant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés ;
- Évaluation de la Qualité (**EQ**) : Est le moyen de déterminer la qualité des résultats.

Généralement, c'est une évaluation externe de la performance d'un laboratoire, utilisant un panel significatif. L'évaluation de la qualité est mise en œuvre en vue de déterminer l'efficacité du programme d'assurance de la qualité.

Les valeurs prédictives d'un test rendent compte mieux de sa validité dans une population donnée.

5.7. Difficultés.

Notre étude souffre de certaines limites notamment :

• Difficultés liées au prélèvement

- Les bulletins non- conforme n'authentifient pas la provenance de ces derniers et indirectement les qualificatifs du prescripteur
- Les données sociodémographiques incomplètes ne nous permettaient pas de bien étudier la population concernant.

• Difficultés liées au local et à la gestion des déchets biomédicaux

- Manque de locaux pour les activités
- Insuffisances dans la gestion des déchets.
- Manque de local approprié pour le stockage des consommables et réactifs.

• Difficultés liées au personnel

- Manque de motivation du personnel
- Charge énorme de travail.
- Manque de personnel surtout de biologiste

• Difficultés liées à la technique

- Ruptures en consommables et réactifs de laboratoire.
- Mauvaise gestion des consommables et réactifs au niveau des dépositaires et sur les sites d'utilisation.

• Difficultés liées au rendu des résultats

- Non retrait des résultats par les patients et les prescripteurs
- Manque de moyens de transmission des résultats.

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATION.

6.1. Conclusion.

Au terme de cette étude nous pouvons dire que le contrôle de qualité est applicable dans le dépistage de la tuberculose au niveau du laboratoire du centre de santé de référence de la commune IV, Les ressources humaines et matériel disponibles sont suffisantes pour la réalisation d'une microscopie acceptable de la tuberculose. Le contrôle de qualité a un intérêt pour les techniciens de laboratoire; il leur permet d'évaluer leur performance et de la comparer à celle d'autre laboratoire de référence de la tuberculose. L'instauration d'un système de contrôle de qualité de la microscopie permettra le maintien de la performance et l'amélioration des déficiences constatées au niveau de certain centre de santé de référence.

6.2. Recommandation.

Ainsi au terme de ce travail nous recommandons :

6.2.1 Au Laboratoire National de Référence de la Tuberculose :

- D'intensifier les sessions de formations des techniciens des laboratoires périphérique pour réduire d'avantage les taux de discordance.

6.2.2 Au programme national de lutte contre la tuberculose :

- D'assurer la continuité du système de contrôle de qualité.

6.2.3 A la Directions nationale de la Santé:

- Mettre plus de moyens à la disposition des laboratoires de la microscopie de la tuberculose.

7. ANNEXES.

PROCEDURE DE TESTS DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE

Phase pré analytique :

- Identification du patient
- Vérification de la demande d'examen
- Enregistrement du patient (nom et prénoms, âge, sexe, résidence, profession, ethnie, autres renseignements si besoin)
- Choix des matériels de prélèvement (pots pour crachat, lame pour bacilloscopie)
- Identification des matériels de prélèvement
- Prélèvement proprement dit
- Confection des frottis

Phase analytique :

- Exécution des modes opératoires (1.confection, séchage et fixation des frottis 2. Coloration des frottis 3. Lecture et interprétation)

Phase post analytique :

- vérification des résultats des contrôles de qualité et des résultats du patient
- Validation technique /analytique des résultats par le technicien
- Validation biologique des résultats par le biologiste
- Exploitation des résultats, enregistrement
- Conservation des prélèvements
- Rendu des résultats aux prescripteurs/clients
- Archivage des résultats
- Gestion des déchets biomédicaux

7.1 Annexe 1

CENTRE DE SANTE DE REFERENCE DE LA COMMUNE IV

MODE OPERATOIRE NORMALISE

TITRE : MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN DE CRACHATS

Rédigé le : Par : Sory TÉKÉTÉ Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Oumar DIAKITÉ Visa :
Modifié le : Par : Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Visa :
Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par :

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

	Responsable qualité	Techniciens biologistes	
--	------------------------	----------------------------	--

Exemplaires : Classeur de MYCOBACTERIOLOGIE

Documents Qualité liés:

MAQ :

P :

MO : MON PRELEVEMENT DE CRACHAT POUR BACILLOSCOPIE

D : Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.

I – Buts

Décrire le mode d'examen des crachats par bacilloscopie.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur mycobactériologie. Les agents techniques susceptibles d'appliquer cette technique.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

GBEA

V – Contenu

1. Principes

- **Indications** Les mycobactéries sont des bacilles acido-alcoolo-résistants

(BAAR) qui sont mise en

Evidence par examen microscopique après coloration par la technique de Ziehl Nelsen. Diagnostic chez un patient suspect de tuberculose pulmonaire.

2. Prélèvements

Le recueil de crachats se fait selon le mode opératoire de recueil de crachats décrit dans le GBEA. Le recueil des crachats se fera à l'extérieur du laboratoire et à l'air libre.

L'agent de santé doit mettre le malade en confiance en lui expliquant le motif de l'examen, l'importance de s'efforcer a donner une bonne expectoration.

❖ Lui montré comment toussé afin que l'expectoration viennent du plus profond possible du thorax. Il le conseillera d'être patient et persévérant.

❖ Contrôle la qualité et la quantité de l'expectoration obtenue.

Trois échantillons de crachat sont prélevés pour le diagnostic.

- Après un premier entretien au laboratoire un premier échantillon est recueillis sur place.

- Un deuxième crachoir sera remis au malade en lui expliquant de donner le matin un crachat dès son réveil après s'être rincé la bouche et de le ramené au laboratoire.

- A son arrivé au laboratoire un autre crachoir lui sera pour le recueil du troisième crachat sur place

Celui doit avoir un volume de 3 à 5 ml et contenir des particules solides ou purulentes si la quantité de crachat est insuffisante, encouragé le malade à recracher.

Si le malade n'arrive pas à cracher, il faut considérer le crachoir ayant déjà servi et par conséquent, selon sa nature le détruire ou le mettre en stérilisation.

Dans ce cas on lui remettra un autre crachoir stérile en s'assurant qu'il a bien compris la manière de recueillir ces crachats et en lui demandant de mettre des expectorations le matin au réveil dans le crachat et l'emporter au centre de sante.

Il faut lui montrer en ce moment comment il faut bien fermer le crachoir de manière étanche et lui conseiller de ne pas agiter le flacon au cour du transport.

Par contre si au cour de l'opération de recueil le malade a pu donner un échantillon valide tant pour la quantité et la qualité, l'agent de sante se chargera de fermer hermétiquement le crachoir et de le porter au laboratoire.

3. Matériel et Réactifs

3.1. Matériel

- microscope binoculaire électrique.
- lampe à alcool ou un bec Bunsen
- bac de coloration
- portoir/râtelier pour lames pour le séchage (en bois ou plastique)
- pissettes de coloration (en plastique avec un bec verseur)
- entonnoirs en plastique
- papier filtre
- crachoirs
- anse de nickel chrome.
- lames porte objet
- pince
- crayon diamant ou marqueur
- minuterie

- flacon contenant du sable avec de l'alcool qui dépasse le sable environs 1 à 2 cm
- poubelle munie d'un sac plastique pour jeter le matériel contaminé destiné à l'incinération.

3.2. Réactifs

- Solution de fuschine phéniquée à 1 %

Fuschine basique 10 g

Phénol 50 g

Alcool 100 ml

Eau distillée QSP 1000 ml

- Solution de décoloration à 25 %

Alcool 90° 750 ml

Acide chlorhydrique 250 ml

- Solution de bleu de méthylène à 0,3 %

Bleu de méthylène 10 g

Eau distillée 3000 ml

- Huile à immersion

7.2. Annexe 2

Mode opératoire

Titre : Confection, séchage et fixation des frottis

Rédigé le : Par : Sory TÉKÉTÉ Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Oumar DIAKITÉ Visa :
Modifié le : Par : Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Visa :
Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par :

X Document provisoire

X Document opérationnel

Destinataires

	Responsable qualité	Techniciens biologistes	
--	------------------------	----------------------------	--

Exemplaires : Classeur de MYCOBACTERIOLOGIE

Documents Qualité liés:

MAQ :

P :

MO : Confection, séchage et fixation des frottis

D : Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.

I – Buts

Décrire le mode d'examen des crachats par bacilloscopie.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur mycobactériologie. Les agents techniques susceptibles d'appliquer cette technique.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

GBEA

V – Contenu

- utiliser des lames neuves
- identifier les lames en écrivant les numéros avec le crayon diamant
- Vérifier que le numéro sur la lame est le même que celui du crachoir.
- Flamber l'anse, laisser refroidir ouvrir le crachoir avec précaution
- prélever à l'aide de l'anse une parcelle solide et caséuse du crachat (le résultat de l'examen dépend essentiellement du choix de la particule sur laquelle on fera le frottis)
- Déposer la parcelle sur la lame et l'étaler sur une surface d'environ 1cm x 2cm tout en évitant les bords de la lame
- Etaler en faisant des mouvements circulaires et distribuer de manière homogène l'échantillon sur la lame
- après chaque étalement plonger l'anse dans le flacon contenant sable et l'alcool pour décharger les particules de crachats restées accrochées à l'anse
- puis chauffer l'anse jusqu'à rougir avant la confection d'un autre frottis
- Le frottis doit être mince et non épais

NB : On doit pouvoir lire les écritures d'un papier journal à travers un bon frottis.

4.2. Séchage des frottis

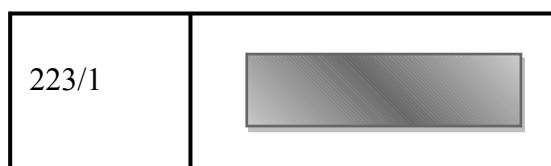
Laisser sécher le frottis à l'air libre sur une surface plane ou dans une boîte de séchage type OMS, pendant 15- 30 mn. Ne jamais sécher les frottis à la flamme.

4.3. Fixation des frottis

- fixer le frottis après un séchage adéquat
- Prendre la lame à l'aide d'une pince, frottis tourné vers le haut, et la faire passer à trois reprises, au dessus de la flamme du bec Bunsen ou de la lampe à alcool (pendant 3 à 5 secondes).
- Les frottis fixés (ou non fixés) se conservent longtemps, par exemple pour servir de contrôles positifs.

NB : faire attention à la conservation des frottis non fixés qui restent contagieux.

Schéma : lame bien identifiée et bien étalé



7.3. Annexe 3

TITRE : Coloration des frottis

Rédigé le : Par : Sory TÉKÉTÉ Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Oumar DIAKITÉ Visa :
Modifié le : Par : Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Visa :
Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par :

X Document provisoire

X Document opérationnel

Destinataires

	Responsable qualité	Techniciens biologistes	
--	------------------------	----------------------------	--

Exemplaires : Classeur de MYCOBACTERIOLOGIE

Documents Qualité liés:

MAQ :

P :

MO : Coloration des frottis

D : Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.

I – Buts

Décrire le mode d'examen des crachats par bacilloscopie.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur mycobactériologie. Les agents techniques susceptibles d'appliquer cette technique.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

GBEA

V – Contenu

La technique de coloration de choix du programme est celle de Ziehl Neelsen à chaud :

- La fuschine, qui est un colorant basique, colore la paroi des mycobactéries en rouge.
 - L'alcool décolore les autres éléments non acido-alcool-résistants (cellules épithéliales, leucocytes et autres bactéries)
 - Le bleu de méthylène colore le fond du frottis en bleu.
 - Les BAAR vont apparaître en rouge sur fond bleu.
1. Couvrir en totalité les lames de fuschine phéniquée à 1% filtrée.
 2. Chauffer avec la flamme d'une lampe alcool ou d'un coton enroulé au bout d'une tige imbibé d'alcool et enflammé jusqu'à l'émission de vapeurs tout en évitant de bouillir le colorant. Répéter le chauffage toutes les 3 minutes (3fois au total.). Utiliser la minuterie.
 3. Laisser agir le colorant 10 minutes.
 4. Rincer avec de l'eau courante
 5. Couvrir par le mélange alcool-acide et laisser agir pendant 3 minutes.
 6. Rincer avec de l'eau courante (si le frottis reste mal décoloré, c'est-à-dire rougeâtre, répéter l'étape de décoloration en couvrant à nouveau la lame par le mélange alcool-acide et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau courante).
 7. Couvrir par le bleu de méthylène à 0,3 % et laisser agir pendant 1 minute.
 8. Rincer à l'eau courante
 9. Laisser sécher les frottis ainsi colorés à l'air libre, disposés sur un râtelier en position inclinée.

7.4. Annexe 4

TITRE : Lecture et Interprétation des résultats

Rédigé le : Par : Sory TÉKÉTÉ Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Oumar DIAKITÉ Visa :
Modifié le : Par : Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Visa :
Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par :

X Document provisoire

X Document opérationnel

Destinataires

	Responsable qualité	Techniciens biologistes	
--	------------------------	----------------------------	--

Exemplaires : Classeur de MYCOBACTERIOLOGIE

Documents Qualité liés:

MAQ :

P :

MO : Lecture et Interprétation des résultats

D : Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.

I – Buts

Décrire le mode d'examen des crachats par bacilloscopie.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur mycobactériologie. Les agents techniques susceptibles d'appliquer cette technique.

III - Abréviations/Définitions IV - Références

GBEA

V – Contenu

4.5.1. Lecture

La lecture se fait avec un microscope optique binoculaire à l'objectif 100 x à immersion. On compte systématiquement le nombre de BAAR dans chaque champ. Les BAAR vont apparaître en rouge sur fond bleu comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés et plus ou moins granuleux, isolés ou groupés.

- Faire la lecture en suivant la longueur du frottis. Si la longueur du frottis est de 2cm, elle compte environ 100 champs microscopiques.
- Lire au plus 100 champs avant de rendre un résultat, lorsqu'il s'agit d'un échantillon positif et au moins 300 champs (trois longueurs) lorsqu'il s'agit d'un échantillon négatif.

4.5.2. Enregistrement des résultats

Dans les colonnes résultats mettre « Neg » pour les résultats négatifs.

Pour les résultats positifs, mettre dans les colonnes résultats le nombre de « + » correspondant à la richesse du frottis en BAAR (ex : 2+) et dans la colonne commentaires, le nombre de BAAR observés par nombre de champ (ex : 25 BAAR/ 100 champs).

Inscrire dans le registre tous les résultats positifs en rouge : nombre de BAAR observés par champ et nombre de « + ».

4.5.3. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés suivant l'échelle qui suit :

- 0 BAAR dans 300 champs Négatif
- 1 à 9 BAAR dans 100 champs positifs faibles ou « Rares BAAR »
- 10 à 99 BAAR dans 100 champs positifs 1+
- 1 à 10 BAAR par champ sur 50 champs positif 2+
- >à 10 BAAR par champ sur 20 champs positif 3+

7.5. Annexe 5

TITRE : Dégraissage des frottis lus

Rédigé le : Par : Sory TÉKÉTÉ Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Oumar DIAKITÉ Visa :
Modifié le : Par : Visa :
Vérifié le : Par : Visa :
Approuvé le : Par : Visa :
Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par :

X Document provisoire

X Document opérationnel

Destinataires

	Responsable qualité	Techniciens biologistes	
--	------------------------	----------------------------	--

Exemplaires : Classeur de MYCOBACTERIOLOGIE

Documents Qualité liés:

MAQ :

P :

MO : Dégraissage des frottis lus

D : Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.

I – Buts

Décrire le mode d'examen des crachats par bacilloscopie.

II - Domaines et personnels concernés

Secteur mycobactériologie. Les agents techniques susceptibles d'appliquer cette technique.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

GBEA

V – Contenu

Eliminer l'excès d'huile des lames en les maintenant en position inclinée sur du papier absorbant ou une compresse avant de les ranger dans la boîte de rangement.

4.7. Conservation des frottis

Ranger les lames dégraissées dans les boîtes de rangement des lames.

Garder toutes les lames, positives et négatives ensemble, dans la boîte de rangement suivant l'ordre du registre jusqu'au passage d'une supervision nationale.

7.6. Annexe 6

Définition des termes

Laboratoire de biologie médicale

C'est le site où sont effectués les actes d'analyses de biologie médicale par des personnels qualifiés, dans des locaux adaptés et avec un matériel approprié.

Analyses de biologie médicale

Les analyses de biologie médicale sont les examens biologiques qui concourent au diagnostic, au traitement ou à la prévention des maladies humaines ou qui font apparaître toute autre modification de l'état physiologique, à l'exclusion des actes d'anatomie et de cytologie pathologiques.

Ressources humaines

Ensemble des personnes occupant une fonction au sein du laboratoire. Le personnel doit avoir une qualification conforme aux textes réglementaires. Ce personnel a le devoir de se tenir constamment informé de l'évolution de la biologie médicale en participant aussi régulièrement que possible aux conférences, congrès, séminaires, ateliers organisés par les universités, les sociétés savantes et les associations professionnelles. Il doit participer aux programmes de formation continue destinés aux personnels sanitaires.

Les directeurs et responsables de laboratoires ont le devoir d'assurer la formation permanente de leur personnel dans le domaine de la biologie médicale. Tout le personnel exerçant dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale public ou privé est soumis aux règles du secret professionnel et doit respecter les dispositions de ce guide.

- Biologiste

Toute personne titulaire des diplômes ou titres nécessaires, requis par la législation en vigueur, pour exercer la spécialité ou pour assurer la direction d'un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale.

Les dispositions de ce guide concernent également toutes les personnes médecin, pharmacien ou vétérinaire, qui participent à la production des actes de biologie médicale dans le respect de la réglementation en vigueur.

- **Technicien**

Toute personne titulaire d'un diplôme ou d'une qualification reconnue réglementairement pour assurer, sous la responsabilité du biologiste, l'exécution des analyses de biologie médicale. Sont considérés comme techniciens : les assistants médicaux, les techniciens supérieurs de laboratoire et les techniciens de laboratoire.

- **Secrétaire**

Toute personne contribuant à l'accueil des patients, à la mise en forme des documents utilisés ou établis par le laboratoire et à la remise des résultats.

- **Personnel de surface**

Toute personne qui, dans le laboratoire, assure, sous le contrôle des techniciens, la préparation et l'entretien des matériels nécessitant une attention particulière dans leur maniement et l'entretien des locaux.

Assurance de qualité

- **Qualité** : la qualité est l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur. Dans le domaine de la biologie médicale, c'est l'adéquation entre les moyens mis en œuvre et les informations attendues par le médecin prescripteur, ainsi que la réponse aux attentes du patient.
- **Maîtrise de la qualité** : ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour qu'un produit ou un service satisfasse aux exigences de qualité. Dans le domaine de la biologie médicale, l'assurance de qualité permet de maîtriser l'organisation des tâches conduisant à la qualité et couvre notamment les étapes pré-analytiques, analytiques et post-analytiques.
- **Contrôle de qualité externe ou CQE** : également connu sous le nom d'évaluation externe de qualité. Il correspond au contrôle, par un organisme extérieur, de la qualité des résultats fournis par un laboratoire. Ce contrôle rétrospectif permet une confrontation inter laboratoires en vue d'améliorer la qualité du travail de l'ensemble des participants. L'organisme extérieur adresse

les mêmes échantillons aux différents laboratoires, collecte les résultats obtenus, en fait l'étude et les transmet avec commentaires aux laboratoires participants.

- **Contrôle de qualité interne ou CQI** : ensemble des procédures mises en œuvre dans un laboratoire en vue de garantir la qualité des résultats des analyses au fur et à mesure de leur exécution.

Résultats ou comptes rendus d'analyses

Documents écrits, validés et signés par le biologiste ou le responsable du laboratoire comportant les résultats d'analyses qualitatifs et/ou quantitatifs accompagnés de commentaires aussi souvent que cela est nécessaire ou est prévu par la réglementation

Confidentialité

Toutes les informations relatives aux patients sont confidentielles et doivent être protégées par le secret professionnel. Les résultats des analyses de biologie médicale ne peuvent être communiqués qu'au patient lui-même, à une tierce personne dûment mandatée par le patient, au praticien prescripteur et à tout autre praticien désigné par le patient sauf dérogations ou règles spécifiques prévues par la loi et les règlements en vigueur.

Echantillons et prélèvements

- **Prélèvement** : acte permettant l'obtention d'un échantillon biologique.
- **Echantillon biologique** : échantillon obtenu par recueil ou acte de prélèvement et sur lequel vont être effectuées des analyses de biologie médicale.
- **Echantillon de calibrage** : échantillon de composition définie qualitativement et quantitativement, adapté à la méthode utilisée, pour un ou plusieurs constituants, souvent par rapport à des étalons de référence et destiné au calibrage des analyses dans certaines disciplines biologiques.
- **Échantillon de contrôle** : échantillon adapté à la méthode utilisée et destiné à apprécier l'exactitude et la précision des résultats.

Évaluation

Etude des qualités d'un procédé, d'une technique ou d'un instrument permettant d'en préciser les caractéristiques et l'adaptation au but recherché.

Procédures

Opérations à effectuer, précautions à prendre et mesures à appliquer figurant sur des documents propres à chaque laboratoire. Ces procédures peuvent comporter des modes opératoires détaillés ou Modes Opératoires Normalisés (MON).

Qualification

Opération destinée à démontrer qu'un système analytique ou un instrument fonctionne correctement et donne les résultats attendus. Pour le personnel, la qualification correspond à la formation acquise et requise par la réglementation en vigueur. Elle est entretenue par la formation continue interne ou externe à laquelle le personnel du laboratoire est tenu de participer.

Système analytique

Ensemble des moyens analytiques constitués d'une méthode, d'un appareil, d'un (ou plusieurs)

logiciel(s), d'un (ou plusieurs) réactif(s), d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de calibrage, d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de contrôle, qui permet de déterminer la nature d'un constituant ou sa concentration selon un mode opératoire défini.

Transférabilité

Qualité d'un procédé analytique permettant à celui-ci d'être utilisé dans un grand nombre de laboratoires ;

Qualité d'un résultat analytique permettant de comparer celui-ci avec ceux obtenus dans d'autres laboratoires.

Valeurs de référence

Résultats obtenus pour un constituant donné dans une population de référence dont les individus sont exempts de pathologie ou de traitement susceptibles de modifier leurs valeurs.

Les valeurs de référence peuvent varier notamment en fonction de l'origine géographique, du sexe et de l'âge des individus. Elles sont exprimées généralement en tenant compte des limites inférieures et supérieures déterminées par étude statistique. Elles peuvent être établies par le biologiste, en fonction des techniques analytiques qu'il utilise, ou éventuellement vérifiées lorsqu'il emploie les données des publications scientifiques.

L'expression «valeur de référence» est préférable à celles de «valeur usuelle» ou de «valeur normale».

Validation

Opération permettant d'assurer qu'un résultat a été obtenu dans des conditions techniques satisfaisantes et que celui-ci est compatible avec le dossier biologique du patient. Cette validation est à la fois analytique et biologique.

- **La validation analytique** comporte la vérification de la conformité des conditions d'exécution aux procédures et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.
- **La validation biologique** est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses d'un même dossier, et leur confrontation avec les résultats antérieurs.

Elle peut nécessiter la connaissance de l'état clinique du patient et les traitements mis en œuvre.

Elle est assurée par un biologiste ou le responsable du laboratoire.

Traçabilité

Mécanisme permettant de conserver les traces des analyses de biologie médicale, des contrôles effectués et les mesures correctives.

7.7. Annexe 7

FORMULAIRE DE DEMANDE D'EXAMEN D'EXPECTORATION

Nom du centre de santé : Date:.....

Prénom et Nom du malade Age :.....

Sexe: M F Ethnie:..... Profession :.....

Filiation :.....

Adresse (complète) :..... CS Réf:.....

Classification de la maladie :

Pulmonaire Extra pulmonaire Site :.....

Raison de l'examen :

Diagnostic Suivi de la chimiothérapie : (mois)

S S S S
2 3 5 7

N° d'identification du centre de recueil des crachats..... N° d'ordre dans le registre TB.....

Date de recueil de l'expectoration.....

Signature de la personne responsable technique

Signature du demandeur :.....

*** Soyez sûr d'enregistrer le n° TB de District du malade lors des examens pour le suivi des malades sous chimiothérapie**

RESULTATS (À compléter au laboratoire)

N° de série de Laboratoire :..... Nom du laboratoire :.....

(a) Aspect de l'expectoration :

(b) Muco-Purulent Purulent Sanguinolent Salivaire

(b) Microscopie:

Date	Echantillons	Résultat	Positif	Score
		1	+++ ++ faible < 3	
		2		
		3		

*** Ecrivez Nég ou Pos**

Date:Examiné par (signature) :.....

Le formulaire rempli (avec les résultats) doit être envoyé au centre de santé pour enregistrer les résultats sur la fiche de traitement de la tuberculose.

7.8. Annexe 8

TABLEAU N°XVI : Chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse.

ps Activités	Tem	200	2010					2011													
		9	A	S	O	N	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J			
Paillasse			A															D			
Bibliographies												J	F					M	J		
Protocole					F																
Analyse des données																			J		
Rédaction de la thèse																			J	A	
Lecture de la thèse																				O	D
Correction de la thèse																				D	F
Soutenue et archivée																					F

J: Janvier, F: Février, M: Mars, A: Avril, *M*: Mai, J: Juin, *J*: Juillet, A: Août,
S: Septembre, O: Octobre, N: Novembre, D: Décembre.

8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- 1. Guide de Bonne Exécution des Analyses** de biologie médicale (décision 09-472/MS-SG du 02 avril 2009 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère de la santé Bamako Rép. MALI).
- 2. Guide de bonne exécution des analyses** de biologie médicale (Arrêté du 2 Novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville - France).
- 3. World Health Organization** on behalf of the U.S. Centers for Disease Control and Prevention; the World Health Organization; the Clinical and Laboratory Standards Institute®. 2009 Laboratory Quality Management System - Training toolkit
- 4. GROSSET.J., BOIVERT. H., TRUFFOT-PERNOT. CH.** Les Mycobactéries. In. LEON LEMINOR Bactériologie médicale. 1990. Edition Flammarion. P966
- 5. GROSSET.J., BOIVERT.H., TRUFFOT-PERNOT.C.** Les Mycobactéries. In LEON LEMINOR. Bactériologie médicale. 1990. Edition Flammarion. p966-67.
- 6. HUCHON G.** Tuberculoses et mycobactérioses non tuberculeuses. ECM (Elsevier, Paris) 1997. Pneumologie, 6-019-A-33, Maladies infectieuses, 8-038-C-10, p20.
- 7. FAUCHERE J.L ., AVRIL J.L** Bactériologie générale et médicale. 2002. Editions Ellipses. p 310-15.
- 8. DIARRA. B.,** 2005. Étude des connaissances, attitudes et pratiques comportementales de la population générale de Bamako face à la tuberculose. Thèse de médecine Bamako MALI, N°60
- 9. KATZELAMA. T.,** 2005. La fréquence de la tuberculose pulmonaire en milieu carcéral de Bamako. Thèse de pharmacie Bamako MALI, N°86
- 10. BEKONO. T.,** 2002. Aspects radiologiques de la spondylodiscite tuberculeuse ou mal de pott a Bamako. Thèse de médecine Bamako MALI, N°20

11. **DEMBELE. J.**, 2005. Aspects épidémiologiques de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive au mali pendant la décennie 1995 – 2004. Thèse de médecine Bamako MALI, N°198
12. **SANOGO. S.**, 2006. Contrôle de qualité des examens microscopiques dans le diagnostic et le suivi de la tuberculose dans un système décentralisé au mali : cas des centres de santé de référence de Kayes et des communes II, III et VI du district de Bamako. Thèse de pharmacie Bamako MALI, N°45
13. **TRAORÉ. Y.**, 2005. Aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie négative au service de Pneumo-phthisiologie de l'hôpital du point« G ». Thèse de médecine Bamako MALI, N°66
14. **MOUGOU. N.**, 2003. Place de la bacilloscopie et de la cytologie dans le diagnostic des adénopathies mycobactériennes. Thèse de médecine Bamako, N°35
15. **TIMBINE. E.**, 2007. Étude de la tuberculose uro-génitale dans le service d'urologie du point G a propos de 6 cas. Thèse de médecine Bamako p100.
16. **SANGARE. S.A.**, 2006 Démarche qualité au laboratoire de bactériologie CVD de l'hôpital Gabriel TOURE Février à Mars 2006. Thèse de Pharm., Bamako, N°75.
17. **GOITA. Y.**, 2007. Toxicité biologique du traitement simultané de la tuberculose et de l'infection par le VIH-1. Thèse de pharmacie. Bamako MALI, N°39
18. **KONÉ.C.**, 2007. Étude des aspects épidémie-clinique de la spondylodiscite de la tuberculose (ou mal de pott) à propos de 33 cas au CHU du Point G. Thèse de médecine. Bamako Mali, N° 211
19. **KEÏTA.S.**, 2007. Étude de la tuberculose pulmonaire à microscopie positive dans le centre de santé de référence du cercle de Tombouctou. Thèse de médecine. Tombouctou MALI. N°21

20. **KOUGUE.L.**, 2006. Résultats du traitement de la tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive chez les malades VIH positifs et VIH négatifs. Thèse de médecine. Bamako MALI, N°66
21. **DEMBÉLÉ.D.**, 2006. Évaluation des connaissances, attitudes pratique et théoriques des agents sanitaires sur la tuberculose pulmonaire et la stratégie DOTS. Thèse de médecine, N°35
22. **DIALLO.H.**, 2006. Influence du VIH/SIDA sur l'épidémiologie de la tuberculose maladie dans les six communes de Bamako. Thèse de médecine. Bamako MALI, N°32
23. **SOUMANO.A.**, 2006. La tuberculose chez les hémodialyses chroniques au chu du point g de Bamako a propos de 10 observations. Thèse de médecine. Bamako MALI, N°204
24. **CISSE.B.**, 2006. Approche centrée sur le patient tuberculeux : Analyse des stigmas des prestataires de soins dans les centres de santé des Communes 1,5 et 6. Thèse de médecine. Bamako Mali, N°19
25. **DANYOGO.S.**, 2006. Evaluation de la mise en œuvre du traitement antituberculeux en commune V du district de Bamako. Thèse de médecine. Bamako MALI, N°151
26. www.greenfacts.org
27. www.has-sante.fr
28. www.infectiologie.com
29. www.respir.com
30. www.em-consulte.com
31. www.quebecadoption.net
32. www.splf.org
33. <http://www.em-consulte.com>
34. <http://www.reseauafrique2000.org>
35. <http://bases.bireme.br>

Nom : TÉKÉTÉ

Prénom : Sory Ibrahim

E-mail : t.sory1@yahoo.fr

TEL : (223) 76082550

Titre: contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic de la tuberculose au centre de santé de référence de la commune IV

Année académique: 2009-2010

Pays : MALI

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie

Secteur d'intérêt : Bactériologie

Résumé :

Notre travail a consisté à faire une description du cadre de l'étude et des différentes opérations réalisées pour procéder à une comparaison aux normes de qualité exigées et décrites par le Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale

La tuberculose est devenue depuis quelques années, un problème majeur de santé publique et de développement socio économique à travers le monde et en Afrique. La maîtrise de la tuberculose est confrontée à des problèmes.

L'un de ces problèmes est la qualité du diagnostique microscopique

Notre objectif était de décrire quelques méthodes utilisées au laboratoire du centre de sante de référence de la commune IV d'évaluer le laboratoire et d'analyser certaines caractéristiques socio- démographique de la maladie sur un total de 1945 échantillons examinés au cours de la période 2009.

Il s'agit d'une étude rétrospective, cette étude portait sur des malades hospitalisés ou non et des volontaires référées au laboratoire pour un dépistage ou une confirmation de la tuberculose.

Au terme de cette étude nous avons trouvé 206 cas positifs soit 10,6% des patients, Parmi ceux-ci 148 femmes et 58 hommes, Et 1739 cas négatifs soit 89,4% de l'échantillon.

L'évaluation de la structure du laboratoire par un logiciel approprié nous indique une bonne organisation des locaux, les produits et matériels nécessaires pour la microscopie sont disponibles (microscope, colorant, lames...).

La mise en place du contrôle de qualité est nécessaire pour assurer la fiabilité du dépistage microscopique de la tuberculose.

Mots clés : Tuberculose, bacilloscopie, microscopie, centre de santé de référence, contrôle de qualité, commune IV

Summary:

Our work consisted in making a description of the framework of the study and various operations carried out to proceed to a comparison to the standards of quality required and described by the Guide of Good Execution of the Analyses of medical biology

Tuberculosis has become for a few years, a major problem of public health and economic development socio throughout the world and in Africa. The control of tuberculosis is confronted with problems.

One of these problems is the quality of diagnostic microscopic

Our objective was to describe some methods used at the laboratory of the center of health of reference of commune IV to evaluate the laboratory and to analyze certain characteristics socio- demographic disease on a total of 1945 samples examined during the period 2009.

It is about a retrospective study, this study related to in-patients or not and referred volunteers to the laboratory for a tracking or a confirmation of tuberculosis.

At the end of this study we found 206 cases positive either 10,6% of the patients, Among those 148 negative women and 58 men, And 1739 cases or 89,4% of the sample.

The evaluation of the structure of the laboratory by a suitable software indicates a good organization of the buildings to us, the products and equipments necessary for microscopy are available (microscope, dye, blades...).

The installation of the quality control is necessary to ensure the reliability of the microscopic tracking of tuberculosis.

Key words: Tuberculosis, bacilloscopy, microscopy, center of health of reference, quality control, commune IV



Je jure, en présence des Maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure!