



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Année Universitaire 2005 – 2006

Thèse N° _____/P

**Démarche qualité au laboratoire de
bactériologie CVD de l'Hôpital Gabriel TOURE
Février 2002 à Mars 2006**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le ___ / ___ / 2006

Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mr SANGARE Samba Adama

Pour obtenir le Grade de

Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Président	:	Professeur Amadou DIALLO
Membre	:	Professeur Samba Ousmane SOW
Codirecteur de thèse	:	Docteur Souleymane DIALLO
Directeur de thèse	:	Professeur Flabou BOUGOUDOGO

TABLE DES MATIERES

LISTE DU PERSONNEL.....	I
DEDICACES.....	VIII
REMERCIEMENTS.....	X
ABREVIATIONS ET SIGLES.....	VIII
PLAN.....	XVII
1. INTRODUCTION.....	1
OBJECTIFS.....	2
<i>Objectif général</i>	2
<i>Objectifs spécifiques</i>	2
2. GENERALITES.....	3
2.1. ASSURANCE DE QUALITE.....	3
2.1.1. <i>Définitions</i>	3
2.1.2. <i>Mise en place de la démarche qualité</i>	3
2.1.3. <i>Responsabilité de la personne chargée de l'assurance qualité</i>	3
2.1.4. <i>Evaluation externe de la qualité</i> ^[10]	5
2.1.5. <i>Evaluation interne de la qualité</i> ^[10]	6
2.1.6. <i>Stockage et conservation des archives</i>	6
2.1.7. <i>Laboratoire de recherche biomédicale</i>	8
2.2. LES ETAPES DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE.....	10
2.2.1. <i>Phase pré analytique</i> ^[11]	10
2.2.2. <i>Phase analytique</i> ^[11]	14
2.2.3. <i>Phase post-analytique</i> ^[11]	15
2.3. LA DEMARCHE QUALITE ^[7]	17
2.3.1. <i>Les Modes Opératoires Normalisés (MON) :</i>	17
2.3.2. <i>Le contrôle de qualité (CQ) :</i>	18
2.3.3. <i>Qualifications du Personnel</i>	23
2.3.4. <i>La sécurité au laboratoire</i>	24
2.3.5. <i>Indicateurs de l'assurance de la Qualité au laboratoire</i>	25
3. METHODOLOGIE.....	28
3.1. LE CADRE D'ETUDE.....	28
3.2. TYPE D'ETUDE.....	29
3.3. CRITERES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION.....	29
3.4. LA RECEPTION DES PRELEVEMENTS AU LABORATOIRE.....	30
3.5. PRESENTATION DES METHODES.....	30
3.5.1. <i>L'appareil BACTEC 9050 et les bouillons de culture</i>	30
3.5.2. <i>Protocole de techniques des hémocultures positives</i> ^[17]	33
3.5.3. <i>Protocole et méthode de travail des cultures du LCR et des autres liquides biologiques</i> ^[17]	36
3.6. TECHNIQUES UTILISEES.....	38
3.6.1. <i>Coloration de gram</i>	38
3.6.2. <i>Test de la Catalase</i>	42
3.6.3. <i>Test de la Coagulase</i>	44
3.6.4. <i>Test d'Oxydase</i>	46
3.6.5. <i>Test à la Bacitracine (Disque A)</i>	48
3.6.6. <i>Test à l'Optochine (Disque P)</i>	49
3.6.7. <i>Système d'identification API 20 E</i>	51
3.6.8. <i>Facteurs X et V de Croissance des HAEMOPHILUS</i>	54
3.7. CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUES.....	56
3.8. EXEMPLES DE MODES OPERATOIRES NORMALISES (MON) OU STANDARD OPERATING PROCEDURE (SOP).....	62
3.8.1. <i>Cas du microscope</i>	62
3.8.2. <i>Cas du Bactec</i>	65
3.8.3. <i>Cas du prélèvement</i>	77
3.8.4. <i>Cas de la gestion des déchets</i>	80

3.8.5.	<i>Cas de l'utilisation de l'eau de javel</i>	85
3.9.	SAISIE INFORMATIQUE DES RESULTATS.....	88
3.9.1.	<i>Description du processus d'étude de HGT</i>	88
3.9.2.	<i>Matériels et Connexions</i>	92
4.	RESULTATS	96
4.1.	RESULTATS DES CONTROLES DE QUALITE EFFECTUES.....	96
4.1.1	<i>Contrôle de qualité des réactifs de la coloration de Gram</i>	96
4.1.2	<i>Test de catalase</i>	98
4.1.3	<i>Test de coagulase</i>	99
4.1.4	<i>Test d'oxydase</i>	100
4.1.5	<i>Contrôle de qualité du disque de BACITRACINE (A)</i>	101
4.1.6	<i>Contrôle de qualité du disque de OPTOCHINE (P)</i>	101
4.1.7	<i>Contrôle de qualité de la galerie API 20 E</i>	102
4.1.8	<i>Contrôle de qualité des disques de facteurs X, V, et XV</i>	103
4.1.9	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas I</i>	104
4.1.10	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas II</i>	105
4.1.11	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas III</i>	106
4.1.12	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas IV</i>	107
4.1.13	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique – STRETOCOCCUS pneumoniae</i>	108
4.1.14	<i>Contrôle de qualité du disque d'antibiotique – HAEMOPHILUS influenzae type b</i>	109
4.1.15	<i>.Contrôle de qualité de la gélose MACCONKEY</i>	110
4.1.16	<i>.Contrôle de qualité de la gélose au sang de cheval</i>	110
4.2.	RESULTATS DES CONTROLES METROLOGIQUES DES INSTRUMENTS ET APPAREILS ...	111
4.2.1.	<i>Incubateur de 37 °C sans CO₂</i>	111
4.2.2.	<i>Incubateur à CO₂</i>	112
4.2.3.	<i>Congélateur de – 20 à – 60 °C</i>	113
4.2.4.	<i>Congélateur de – 60 à – 95 °C</i>	114
4.2.5.	<i>Réfrigérateur de 2 à 8 °C</i>	115
4.2.6.	<i>Nettoyage et surveillance des filtres d'air des automates Bactec</i>	116
4.2.7.	<i>Contrôle de qualité de l'appareil Mac Farland</i>	117
4.3.	RESULTATS DES PRELEVEMENTS EFFECTUES.....	118
4.3.1.	Répartition des prélèvements effectués de 2002 à 2004.....	118
4.3.2.	Résultats pour les hémocultures.....	120
4.3.3.	Résultats pour les Liquides Céphalo-Rachidiens (LCR).....	122
4.3.4.	Résultats pour les autres liquides biologiques.....	124
4.3.5.	Souches cliniques isolées ayant fait l'objet de contrôle à l'extérieur.....	126
5.	COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS	128
5.1.	L'ASPECT APPROVISIONNEMENT EN CONSOMMABLES ET REACTIFS DE LABORATOIRE :.....	128
5.2.	LA SAISIE DES PRELEVEMENTS EST FAITE SUR DES SUPPORTS MANUELS ET INFORMATIQUES ET ASSURE :.....	128
5.3.	LES EXAMENS ONT PORTE SUR :.....	129
5.4.	LA SURVEILLANCE DES APPAREILS ET INSTRUMENTS.....	129
5.5.	LE RESPECT DES PROCEDURES ET MODES OPERATOIRES NORMALISES.....	129
5.6.	LA QUALITE DES RESULTATS.....	130
6.	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	132
	BIBLIOGRAPHIE	133
	RESUME	137
	ABSTRACT	138
	ANNEXES	139

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : ANTIBIOGRAMME DES SOUCHES ISOLEES EN CLINIQUE	61
TABLEAU II : TITRE : FONCTIONNEMENT ET UTILISATION DU MICROSCOPE OLYMPUS CX31 - VERSION N° 1	62
TABLEAU III : TITRE : MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU BACTEC™ 9050 – VERSION N°1	65
TABLEAU IV : DATE ET FORMAT DE LA DATE	70
TABLEAU V : TITRE : MODE OPERATOIRE DU PRELEVEMENT DE SANG POUR CULTURE – VERSION : N° 1	77
TABLEAU VI : TITRE :PROCEDURE DE TRI ET D'ELIMINATION DES DECHETS - VERSION N° 1	80
TABLEAU VII : TITRE :MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DE LA JAVEL - VERSION N° 1	85
TABLEAU VIII : CONTROLE DE QUALITE DES REACTIFS DE LA COLORATION DE GRAM	96
TABLEAU IX : TEST DE CATALASE	98
TABLEAU X : TEST DE COAGULASE	99
TABLEAU XI : TEST D'OXYDASE	100
TABLEAU XII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE DE BACITRACINE (A)	101
TABLEAU XIII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE DE OPTOCHINE (P).....	101
TABLEAU XIV : CONTROLE DE QUALITE DE LA GALERIE API 20 E	102
TABLEAU XV : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES DE FACTEURS X, V, ET XV	103
TABLEAU XVI : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE – <i>STAPHYLOCOCCUS</i> ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas I.....	104
TABLEAU XVII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE – <i>STAPHYLOCOCCUS</i> ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas II.....	105
TABLEAU XVIII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE – <i>STAPHYLOCOCCUS</i> ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas III	106
TABLEAU XIX : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE – <i>STAPHYLOCOCCUS</i> ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas IV	107
TABLEAU XX : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUE – <i>STREPTOCOCCUS</i> <i>PNEUMONIAE</i>	108
TABLEAU XXI : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUE – <i>HAEMOPHILUS</i> <i>INFLUENZAE</i> TYPE B	109
TABLEAU XXII : CONTROLE DE QUALITE DE LA GELOSE MAC CONKEY	110
TABLEAU XXIII : CONTROLE DE QUALITE DE LA GELOSE AU SANG DE CHEVAL	110
TABLEAU XXIV : INCUBATEUR DE 37 °C SANS CO ₂	111
TABLEAU XXV : INCUBATEUR A CO ₂	112
TABLEAU XXVI : CONGELATEUR DE – 20 A – 60 °C	113
TABLEAU XXVII : CONGELATEUR DE – 60 A – 95 °C.....	114
TABLEAU XXVIII : REFRIGERATEUR DE 2 A 8 °C.....	115
TABLEAU XXIX : TESTS HEBDOMADAIRES DU CONTROLE DE QUALITE DU BACTEC 9050	116
TABLEAU XXX : CONTROLE DE QUALITE DE L'APPAREIL NEFELEMETRE MAC FARLAND.....	117
TABLEAU XXXI : REPARTITION DES PRELEVEMENTS EFFECTUES DE 2002 A 2004	118
TABLEAU XXXII : RESULTATS POUR LES HEMOCULTURES	120
TABLEAU XXXIII : RESULTATS POUR LES LCR	122
TABLEAU XXXIV : RESULTATS POUR LES AUTRES LIQUIDES BIOLOGIQUES.....	124
TABLEAU XXXV : SOUCHES CLINIQUES ISOLEES AYANT FAIT L'OBJET DE CONTROLE A L'EXTERIEUR (CVD BALTIMORE- USA)	126

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : BACTEC 9050	31
FIGURE 2 : FLACON BD BACTEC™ PEDS PLUS/F.....	32
FIGURE 3 : COLORATION DE GRAM (CAS DES BACILLES GRAM NEGATIFS)	41
FIGURE 4 : COLORATION DE GRAM (CAS DES COCCI GRAM POSITIFS).....	41
FIGURE 5 : TEST DE CATALASE	43
FIGURE 6 : TEST DE COAGULASE	45
FIGURE 7 : TEST D'OXYDASE.....	47
FIGURE 8 : TEST A LA BACITRACINE (DISQUE A).....	48
FIGURE 9 : TEST A L'OPTOCHINE (DISQUE P)	50
FIGURE 10 : LE SYSTEME D'IDENTIFICATION DE LA GALERIE API 20 E.....	53
FIGURE 11 : LES FACTEURS DE CROISSANCES DES <i>HAEMOPHILUS</i>	55
FIGURE 12 : EXEMPLE D'ANTIBIOGRAMME (CAS RESISTANT [R])	60
FIGURE 13 : EXEMPLE D'ANTIBIOGRAMME (CAS INTERMEDIAIRE [I])	60
FIGURE 14 : EXEMPLE D'ANTIBIOGRAMME (CAS SENSIBLE [S]).....	60
FIGURE 15 : PROCESSUS DE L'ELIMINATION DES DECHETS - ORGANIGRAMME	82
FIGURE 16 : LES ETAPES DE L'ORGANIGRAMME DE HGT	89
FIGURE 17 : L'ETUDE DE CONNECTIVITE DE HGT.....	93
FIGURE 18 : LES DONNEES D'ETUDE DE HGT FLUX DIAGRAMME	95
FIGURE 19 : REPARTITION DES PRELEVEMENTS EFFECTUES DE 2002 A 2004	119
FIGURE 20 : PROPORTION DES PRELEVEMENTS SUR LES 3 ANNEES.....	119
FIGURE 21 : RESULTAT POUR LES HEMOCULTURES SUR LES 3 ANNEES	121
FIGURE 22 : CONTAMINANTS POUR HEMOCULTURES.....	121
FIGURE 23 : RESULTAT POUR LES LCR SUR LES 3 ANNEES	123
FIGURE 24 : CONTAMINANTS POUR LCR	123
FIGURE 25 : RESULTAT POUR LES LIQUIDES BIOLOGIQUES SUR LES 3 ANNEES	125
FIGURE 26 : SOUCHES CLINIQUES ISOLEES AYANT FAIT L'OBJET DE CONTROLE A L'EXTERIEUR	127

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 – 2006

LISTE DU PERSONNEL

ADMINISTRATION :

Doyen : Anatole TOUNKARA - Professeur
1^{er} Assesseur : Drissa DIALLO - Maître de conférences agrégé
2^{ème} Assesseur : Sékou SIDIBE - Maître de conférences
Secrétaire Principal : YENIMEGUE Albert DEMBELE - Professeur
Agent Comptable : Mme COULIBALY Fatoumata TALL - Contrôleur des Finances

LES PROFESSEURS HONORAIRES :

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie -Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo – phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro - Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D E R & PAR GRADE :

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALISTES CHIRURGICALES :

1. PROFESSEURS :

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie- Réanimation

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES :

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco – Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES :

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie – Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie

4. MAITRES ASSISTANTS :

Mme DIALLO Fatimata S DIABATE	Gynéco – Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale et Thoracique
Mr Issa DIARRA	Gynéco – Obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie – Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE :

Mme Diéneba DOUMBIA	Anesthésie/ Réanimation
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie – Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie – Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie – Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie – Obstétrique
Mr Tiemoko D COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES :

1. PROFESSEURS :

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Siné BAYO	Anatomie–Pathologie – Histo - embryologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES :

Mr Amadou TOURE	Histo - embryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERENCES :

Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie – Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS :

Mr Abdourahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie – Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie – Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

5. ASSISTANTS :

Mr Mangara M BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Boubacar TRAORE	Immunologie
Mr Bokary Y SACKO	Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES :

1. PROFESSEURS :

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de D.E.R
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y MAIGA	Gastro – entérologie – Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato – Léprologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES :

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo – Phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES :

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro – entérologie

4. MAITRES ASSISTANTS :

Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE :

Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou B CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

D.E.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES :

1. PROFESSEURS :

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES :

Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie
Mr Alou KEITA	Galénique

4. MAITRES ASSISTANTS :

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Ababacar I MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie

5. ASSISTANTS :

Mr Saïbou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE :

1. PROFESSEURS :

Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique, Chef de D.E.R.
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE :

Mr Moussa A MAIGA	Santé Publique
-------------------	----------------

3. MAITRES ASSISTANTS :

Mr Bocar G TOURE	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A DICKO	Santé Publique

4. ASSISTANTS :

Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Oumar THIERO	Bio-statistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES :

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Boubou DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

ENSEIGNANTS EN MISSION :

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD	Pathologie Infectieuse
Pr. Mounirou CISSE	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie

Au nom de Dieu le Clément, le Miséricordieux le Très Miséricordieux.

Louange et Gloire à Allah, le Seigneur de la terre et des cieux, le Tout Puissant qui m'a donné la force de mener à bien ce travail.

DEDICACES

DEDICACES

A la mémoire de Madame Sangaré Assa Bagayoko dite Badiallo (Dors en paix maman).

A mon père Adama Sangaré

Très cher père, voici le fruit de la belle éducation que tu as eu à nous procurer. Tous tes enfants à travers ma voix sont très fiers de toi. Ta rigueur et ton honnêteté nous ont toujours été un exemple à suivre. Tu as su nous montrer les règles de bonnes conduites et tu t'es sacrement battu pour que nous puissions réussir. Voici enfin un résultat de tes nombreuses prières et de tes multiples sacrifices. Tes encouragements et tes bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le témoignage de toute mon affection et de mon profond respect envers toi. Que le Tout Puissant te garde aussi longtemps parmi nous. Amen !

A ma mère Feue Assa Bagayoko dite Badiallo

Très chère mère, j'aurai tellement voulu que tu sois là parmi nous afin de savourer ce moment solennel. Le Tout Puissant t'a vite arraché à notre affection mais sache maman que tes souvenirs restent vivants dans nos esprits. Je suis persuadé qu'en aucun moment tu n'as cessé de nous accompagner avec tes bénédictions. Maman je te dédie ce modeste travail qui s'est toujours réalisé avec une affectueuse pensée à toi. Saches que tu nous manques énormément. Repose en paix chère maman et que le Tout Puissant t'accorde le Paradis. Amen !

A ma tante Assiétou Coulibaly

Très chère tante, je ne cesserai jamais de te remercier pour ta sagesse, ton honnêteté et ta grande générosité. Ce travail est également le fruit de ton encouragement et de tes nombreuses bénédictions. Ton dévouement et ton soutien efficace de tous les jours nous ont permis d'atteindre notre objectif. Puisse ce modeste travail te donner un début de satisfaction de tes vœux les plus sincères. Que Dieu nous prête une longue vie pour que tu puisses partager avec nous le fruit de ce travail.

A mon frère aîné Boubacar Sangaré

Très cher aîné, je ne saurais oublier ce lien d'amitié de fraternité et de grande complicité qui nous unit. C'est toi qui m'as toujours montré le chemin de l'excellence. Le fait de t'avoir comme aîné a été une source d'inspiration pour moi et je considère cela comme une énorme chance. Ton soutien inconditionnel et ton souci de bien faire, m'ont accompagné tout au long de ce travail. Que Dieu consolide cette cohésion entre nous.

A mes frères cadets Yaya Sangaré et Ousmane Sangaré

Mes chers cadets, je vous dis beaucoup de courage car le chemin à parcourir est très long et plein d'obstacles. Je peux vous rassurer que je serai toujours là pour vous aider. Je vous souhaite plein succès dans tout ce que vous entreprendrez. Je suis fier de vous et que l'esprit de cohésion nous anime toujours.

A mes grands parents

Feu Doutegué Sangaré ; Feu Samba Bagayoko ; Minata Konaté dite Dah ; Feue Rokiatou Diallo ; Amara Sangaré ; Feu Bakary Sangaré ; Moussokoro Diabaté
Vous m'avez toujours fait preuve de bonne volonté et d'une grande affection dont tout petit-fils peut prétendre. Vos bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Trouvez ici l'expression de mes meilleurs souvenirs et de ma reconnaissance à votre égard.
Que la terre soit légère à ceux qui ne sont plus avec nous. Que leur âme repose en paix, Amen !

A mes cousines et cousins

Vous qui m'avez toujours supporté et soutenu, sachez que ce travail est également le vôtre et veuillez recevoir toute ma reconnaissance.

A mes nièces et neveux

Je vous souhaite beaucoup de courage et de succès. Que Dieu vous garde en bonne santé et vous donne une longue vie.

Aux orphelins et aux victimes de l'injustice du monde entier

La vie n'est certes pas facile mais soyez courageux pour affronter tous les obstacles qui vous accablent. Ce travail est également le vôtre.

A tous les enfants malades du monde entier

Que le Tout Puissant, le Miséricordieux vous donne la santé. Amen !

SANGARE Samba Adama

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

A Allah le Tout Puissant et son Prophète Mohamed (paix et salut sur lui).

Aux familles

Sangaré à Quinzambougou (Bamako) ; Zan Diarra (San) ; Mamadou N Sanogo (Ségou) ; Chacka Sangaré (Kadiolo) ; Zégué Ouattara (Bougouni) ; Bakary Boiré à Magnambougou ; Souleymane Koné à Faso Kanu ; Cheick Oumar Koné à Magnambougou ; Fatogoma Diarra à Faladiè (Bamako) ; Drissa Sangaré ; Daouda Berthé ; Yacouba Diarrassouba (Ségou)

Merci pour vos conseils et vos soutiens matériels et moraux.

A mes oncles

Issa Sangaré ; Chacka Sangaré ; Sekou Sangaré ; Ousmane Sangaré ; Yacouba Sangaré ; Cheicknè Bagayoko ; Djibril Bagayoko ; Bréhima Bagayoko ; Cheick Oumar Bagayoko ; Nouhoum Coulibaly ; Mahamane Coulibaly

Merci pour vos encouragements.

A mes tantes

Assitan, Awa, Kadiatou, Rokia, Adiaratou, Maïmounata, Afou, Mariam, Barakissa Sangaré ; Mariam, Adiaratou, Assitan Bagayoko ; Founèmouso, Kadiatou Kanté ; Bonkana Touré ; Oumou Coulibaly ; Lalla Haïdara ; Diarra Fanta Traoré ; Boiré Fanta Diarra ; Kadia Sacko ; Bernadette Bastide.

Merci pour vos encouragements.

A mes cousins et cousines

Moumouni, Abdoulaye, Salif, Oumar, Madou, Sory, Modibo Ouattara ; Moussa, Aly Koné ; Adama, Nouhoum, Amara Sangaré ; Yaya, N'Fadama Boiré ; Isack, Aboubacar, Mamoutou, Bolly, Silly, Amara Sanogo ; Ousmane, Oumar Traoré ; Mohamed Konaté ; Mohamed Dèm ; Abdoulaye N'Diaye ; Mahamadou Diarra ; Mamadou dit Ladjji Berthé ; Boubacar Konaté
Maïmouna Saye, Fatoumata Coulibaly ; Koudedia, Mama Sanogo ; Mata, Salimata, Mariam dite Tanty, Hawa Sangaré ; Adiara, Djénèba, Hawa Boiré ; Oumou Traoré ; Tenin, Djénèba Diarra ; Aïda Konaté ; Alemie Elizabeth Bastide ; Fatoumata dite Fifi, Ada, Ami Koné ; Aminata Sidibé ; Fatoumata dite La vieille, Rokiatou dite Atou Konaté

Je vous remercie pour votre soutien et pour toute l'estime que portez en moi. Je vous serai éternellement reconnaissant et que Dieu vous récompense.

A mes amis (es) les plus chers

Mohamed Koné ; Mamadou Traoré dit “M” ; Ousmane Maïga ; Sanoussi Traoré ; Mamadou Samaké ;
Fatoumata Badji Touré ; Koumba Fofana ; Awa Doumbia ; Doussouba Camara ;
Kadidia A. Touré ; Lalla M. Touré ; Fatou Diarra ; Djénèba Ouattara.

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 dans les moments durs. Sachez qu’en aucun instant je n’ai regretté votre compagnie. Merci pour votre affection et pour votre sincère fidélité. Que Dieu renforce davantage ce lien si sacré qui nous unit.

A mes camarades de promotion de la FMPOS

Moumine Dembélé ; Alpha Boubacar Kouréïssi ; Nouhoum Sako ; Athanase Diawara ; Sanoussi Traoré ; Mamadou Samaké ; Issiaka Camara ; Boubacar Cissé ; Dramane Malla ; Mahamadou Maïga ; Daouda Kanta ; Yacouba Hassane ; Sidiki Diakité ; Souleymane Coulibaly ; Nouhoum Niakaté ; Zeïnabou Maïga ; Hawa Maïga ; Baminata Sangaré ; Aminata Tounkara

Ensemble on a su regrouper nos forces afin de nous aider mutuellement pour franchir les différents obstacles de la vie estudiantine. Je vous dis encore Merci pour votre courage et votre persévérance et surtout pour vos soutiens dans les peines partagées.

A mes inconditionnels compagnons

Moussa Diakité ; Mohamed Ag Barega ; Amadou Balobo Kaya ; Bourama Traoré ; Mahamadou D. Traoré ; Baba Camara ; Boubacar Doumbia ; Issa Diarra ; Mohamed Diawara ; Sory Goïta
Aramatou Koné ; Salimata Dangnoko ; Mariam Tioté ; Dara Aïssata Fofana ; Faïty Diarra ; Niamé Touré ; Mariam Koné ; Hadiatou Maïga dite Mah

Je vous remercie infiniment du fond du cœur pour votre soutien et votre encouragement, croyez moi je ne regrette pas de vous avoir rencontré.

A mes aînés du Laboratoire d’Analyses Médicales de HGT

Drs Aliou Touré, Mariam Samaké, Tenin Samaké, Nia Kadidia Samaké ;
Mrs Makandjan Dembélé, Modibo Sadessi, Cheick Fanta Mady Diabaté,
Alphady Cissé

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

Au professeur Samba O. Sow, MD, MSc coordinateur CVD- Mali et tout le personnel du CVD

Merci pour l'expérience acquise auprès de vous.

Au personnel de l'Hôpital Gabriel TOURE, plus particulièrement tout le personnel du Laboratoire d'Analyses Médicales

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 sincères remerciements pour l'enseignement et les encadrements reçus.

A tous mes maîtres depuis le primaire

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

A tous les étudiants de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Merci pour les nombreux souvenirs des années passées ensemble.

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

Qu'elles en soient remerciées.

AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et président du jury

Professeur Amadou DIALLO

Professeur de Zoologie et de Biologie Animale

**Ancien Chef de DER des Sciences Fondamentales à la Faculté de Médecine
de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)**

Vice Recteur de l'Université de Bamako

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Votre simplicité, votre modestie et votre rigueur dans la recherche scientifique font de vous un homme respecté et admirable. Depuis le moment où nous avons franchi le seuil de cette Faculté, nous avons été vite impressionnés par votre dévouement et votre sens élevé de la personnalité humaine. Votre disponibilité, votre passion dans le travail et vos grandes qualités d'homme de science, de chercheur font de vous une référence.

Cher Maître, veuillez accepter l'expression de nos sincères remerciements et de notre profond respect.

A notre Maître et juge

Professeur Samba Ousmane SOW

Spécialiste en Léprologie, Epidémiologiste des pathologies infectieuses

Chef de l'Unité Léprologie du CNAM

Coordinateur du Centre pour le Développement des Vaccins (CVD- Mali)

Cher Maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury de thèse malgré vos immenses occupations.

Votre souci du travail bien fait, vos qualités professionnelles et humaines font de vous un maître estimé et admiré de tous.

Votre courtoisie et votre esprit de collaboration ont beaucoup contribué à l'amélioration de ce travail.

Veillez, cher maître, accepter l'expression de nos sentiments de sincère reconnaissance et notre profond respect.

A notre Maître et Co- Directeur

Docteur Souleymane DIALLO

Pharmacien Biologiste du Service de Santé des Armées.

Maître assistant de Bactériologie- Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Chef de service du Laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital Gabriel Touré

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. Je peux d'ailleurs affirmer que j'ai fait mes premières initiations dans le monde de la microbiologie à vos côtés. Votre simplicité, votre compétence et votre rigueur scientifique sont des atouts qui nous ont fasciné et dont nous avons bénéficié tout au long de notre formation. Vous n'avez ménagé aucun effort pour la belle réalisation de ce travail qui, également, est le vôtre.

Cher Maître, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos sincères reconnaissances.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Maître de conférence agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Directeur Général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique

Responsable des cours de bactériologie et de virologie à la FMPOS

Cher Maître, vous nous aviez fait honneur en acceptant la réalisation de cette thèse dans le Service du laboratoire d'Analyses Médicales de L'Hôpital Gabriel TOURE. En plus de votre statut de chercheur confirmé et aguéri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail.

Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admiré de tous

Soyez assuré, cher maître, de notre sincère admiration et de notre profonde gratitude. Nous vous réitérons tous nos remerciements.

ABREVIATIONS ET SIGLES

ATCC:	American Type Culture Collection
AQ :	Assurance Qualité
BD:	Becton Dickinson
BGP:	Bacille Gram Positif
BGN:	Bacille Gram Négatif
CGPch:	<i>Cocci</i> Gram Positif en chaîne
CGPgr:	<i>Cocci</i> Gram Positif en grappe
CGPpr:	<i>Cocci</i> Gram Positif en paire
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CNAM :	Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie
CoccoBGN:	<i>Cocco</i> Bacille Gram Négatif
CO ₂ :	Dioxyde de carbone
CVD:	Center for Vaccine Development (Centre pour le Développement des Vaccins)
CQ :	Contrôle de Qualité
CQE :	Contrôle de Qualité Externe
CQI :	Contrôle de Qualité Interne
CSF :	Cerebral Spinal Fluid
DCCNa :	Dichloroisocyanurate de sodium.
DCGN:	Diplocoque Gram Négatif
Dr S D :	Docteur Souleymane Diallo
FMPOS :	Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie
GBEA :	Guide de Bonne Exécution des Analyses
g/L:	gramme par litre
GDH :	Global Digital Health
GLU:	Glucose
HCl:	Acide Chlorhydrique
HGT :	Hôpital Gabriel TOURE
HNP "G" :	Hôpital National du Point "G"
H ₂ S:	Hydrogène sulfureux
I :	Intermédiaire
INRSP:	Institut National de Recherche en Santé Publique
LCR :	Liquide Céphalorachidien
LDC:	Lysine Décarboxylase
LED:	Diode électroluminescente
ml :	millilitre
mm :	millimètre
µg:	microgramme
MON:	Mode Opérateur Normalisé
NaCl :	Chlorure de sodium

N ₂ :	Azote
NO ₂ :	Nitrite
NCTC:	National Collection of Type Cultures
ODC:	Ornithine Décarboxylase
ONPG:	Ortho-Nitro-Phényl-β-d-Galactopyranosidase
PCR :	Polymerase Chain Reaction
pH :	potentiel Hydrogène
Pr F D :	Professeur Flabou Bougoudogo
R :	Résistant
RM:	Rouge de Méthyle
S :	Sensible
S A S :	Samba Adama Sangaré
SCN :	<i>Staphylococcus</i> à Coagulase Négative
SIBI :	Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive
SNA :	<i>Staphylococcus non aureus</i>
SOP:	Standard Operating Procedures (Procédures Opérationnelles Standard)
TDA:	Tryptophane Désaminase
UMD :	Université de Maryland
VP:	Voges Proskauer

PLAN

1. INTRODUCTION

2. GENERALITES

3. METHODOLOGIE

4. RESULTATS

5. COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

“Quality is never an accident, it is always the result of an intelligent effort.”

John Ruskin, Historian

« La qualité n'est jamais un accident, elle est toujours le résultat d'un effort intelligent. »

INTRODUCTION



1. INTRODUCTION

En 2002, le Laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE a bénéficié du soutien du Centre pour le Développement des Vaccins (CVD) en terme de rénovation et d'équipement pour les activités de bactériologie dans le cadre d'un projet de recherche. Cette recherche porte sur les Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives (SIBI) chez les enfants vus en consultation à l'hôpital notamment dans le service de pédiatrie. Ceci a été rendu possible grâce à l'initiative du « Center for Vaccine Development » de Baltimore à l'Université de Maryland aux USA. Il était donc important de travailler comme on le fait dans cette structure, ce qui a valu l'application des mêmes Modes Opératoires Normalisés ou « Standard Operating Procédures » (SOP) et donc une exigence de la démarche qualité à tous les niveaux et à chaque instant dans les pratiques de notre laboratoire.

Il faut noter que 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 d'un traitement. 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. Et comme on le dit si bien, la qualité n'est jamais un accident, elle est toujours le résultat d'un effort intelligent.^{[8]. [9]}

Cette thèse est réalisée dans le cadre de l'étude du Centre pour le Développement des Vaccins du Mali (CVD- Mali) dans le service de Laboratoire d'analyse médicale (Section Bactériologie) de l'Hôpital Gabriel TOURE et a couvert la période de 2002 à 2004 en ce qui concerne l'analyse des données et toute la période de 2005 à 2006 en cours pour le Contrôle de Qualité Interne et Externe du laboratoire.



OBJECTIFS

Objectif général

L'objectif principal de ce travail était de faire l'inventaire des outils de travail élaborés, nécessaire à une démarche qualité au laboratoire de l'Hôpital Gabriel TOURE (HGT) de février 2002 à mars 2006.

Objectifs spécifiques

Pour ce faire nous nous étions fixés les objectifs spécifiques suivants :

- élaborer ou compléter des procédures de travail à mettre en place pour rendre des résultats de qualité;
- identifier et solutionner les problèmes qui se posent dans l'application des Modes Opératoires Normalisés;
- assurer le relevé quotidien des paramètres métrologiques pour suivre la précision, la fiabilité des appareils de mesures et de stockages des réactifs et des milieux de culture, le report et le rendu des résultats d'examen dans les délais acceptables;
- assurer un contrôle interne des réactifs, des milieux de culture sur des souches de référence et des contrôles externes par l'envoi de souches cliniques à l'extérieur.

GENERALITES



2. GENERALITES

2.1. ASSURANCE DE QUALITE

2.1.1. Définitions

L'assurance de qualité est l'ensemble des actions préétablies et systématiques pour donner la confiance appropriée en ce qu'un produit ou service satisfera aux exigences données relatives à la qualité.^[7]

Selon les participants du séminaire de Bamako, novembre 1998^[8], l'assurance de qualité est perçue comme la prise de conscience nécessaire d'une organisation indispensable, chaque biologiste ayant par ailleurs toute latitude d'établir son propre GBEA en fonction des moyens de son laboratoire

2.1.2. 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 ne dépend pas seulement de l'analyse proprement dite, mais 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.^[9]

2.1.3. Responsabilité 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 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 appareils ;
 - 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'analyse ;
 - 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. ^[5]



2.1.4. Evaluation externe de la qualité ^[10]

2.1.4.1. Contrôle de qualité national

Il s'agit d'un auto- contrôle qui se déroule 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. Elle doit être le 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 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.



2.1.4.2. 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 présentant les garanties nécessaires.

2.1.5. Evaluation interne de la qualité ^[10]

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.

Les procédures opératoires précisent la fréquence de passage des échantillons de contrôle et les valeurs acceptables pour chaque constituant. Elles doivent comporter les instructions concernant les mesures à prendre en cas d'anomalies constatées.

Il est rappelé que les échantillons de contrôle ne peuvent en aucun cas se substituer aux échantillons de calibrage des mesures et, inversement, les échantillons de calibrage ne peuvent être utilisés en même temps comme échantillon de contrôle.

Dans les disciplines mettant en œuvre un examen macroscopique et/ou microscopique, il est utile de conserver les pièces pathologiques ayant servi au diagnostic pouvant constituer un élément de référence.

2.1.6. Stockage et conservation des archives

Le stockage et la conservation des archives concernent les volets suivants :

- **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 est conservé pendant une période de dix ans ;



▪ **Résultats nominatifs des analyses**

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

▪ **Registres de laboratoire**

Les dossiers et les registres sont conservés pendant vingt ans.

▪ **Normes et procédures**

Il sera conservé un exemplaire des procédures et modes opératoires ainsi que 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.

▪ **Résultats des contrôles de qualité et corrections**

Les résultats des contrôles de qualité externes sont 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 qualités 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.

▪ **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 ;

▪ **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.



2.1.7. Laboratoire de recherche biomédicale

Les analyses de biologie médicale effectuées au cours des recherches biomédicales sont destinées :

- soit à mettre en évidence une propriété pharmacologique ou thérapeutique d'un ensemble de molécules médicamenteuses se traduisant par une modification qualitative ou quantitative d'un constituant biologique ;
- soit à réserver une toxicité susceptible d'induire une altération métabolique générale ou une insuffisance organique ou fonctionnelle ;
- soit à réaliser une étude épidémiologique.

Au cours de ces expertises, l'interprétation des résultats biologiques met en œuvre des méthodes statistiques d'une importance primordiale pour éviter de fausses conclusions.

Pour le cas de la biologie moléculaire, la mise en œuvre des techniques nécessite un encadrement et un personnel formé à ces techniques.

2.1.7.1. Etablissement du protocole de recherche

Ce temps est capital ; de sa rigueur dépendra en grande partie la qualité de l'étude.

Le protocole de recherche est établi, en tenant compte des exigences législatives et réglementaires, par concertation entre les différentes parties intéressées : le promoteur de l'étude, l'investigateur principal, le biologiste et le statisticien.

Il doit détailler avec précision les différents stades et opérations de l'étude. Outre la nature, le nombre et la fréquence des examens demandés, il faut apporter une attention particulière aux points suivants :

- le médicament administré ou ses métabolites est (sont) susceptible(s) de fausser certains résultats analytiques ;
- l'heure des prélèvements et son rapport avec celui de l'administration médicamenteuse ;
- les conditions de prélèvement, d'étiquetage, de transport au laboratoire, du traitement préalable, ainsi que la température et la durée de conservation en cas d'analyse différée ;
- l'incidence des jours fériés.

Des procédures opératoires claires et détaillées sont établies à l'usage du personnel chargé du prélèvement, de l'identification, du traitement préalable, du transport et de l'exécution des analyses.



La méthode analytique est choisie en fonction des exigences de l'expertise : appareillage, réactifs, choix des étalons, des échantillons de calibrage et de contrôle ; ses performances, sa précision, son exactitude, sa spécificité sont communiquées.

Dans la mesure du possible, la méthode analytique est identique pendant toute la durée de l'étude (mêmes réactifs, même solution de calibrage et mêmes échantillons de contrôle).

L'exécution immédiate ou différée des analyses fait l'objet d'une conservation. En cas d'exécution différée, les conditions de conservation et d'exécution des analyses doivent être précisées.

La suspicion d'une toxicité du produit administré rend dangereuse l'exécution différée des analyses et nécessite l'envoi immédiat des résultats à l'investigateur principal.

Les comptes rendus, outre les résultats des analyses biologiques, mentionnent ceux des contrôles. Les résultats doivent être transmis à l'investigateur principal.

Au cours de ces expertises, l'interprétation des résultats biologiques met en œuvre des méthodes statistiques sur lesquelles le biologiste donne son avis pour éviter de fausser les conclusions de l'essai clinique.

Le protocole de recherche une fois établi, est soumis au comité scientifique pour amendement. Il requiert également l'avis favorable du comité d'éthique biomédical avant sa réalisation

2.1.7.2. Réalisation du protocole

Le biologiste responsable de son exécution veille ;

- à ce que les résultats des analyses qui explorent des fonctions vitales puissent être utilisés dans des délais compatibles avec la mise en œuvre d'une surveillance clinique
- à la bonne exécution des analyses en conformité avec les prescriptions du guide et les règles édictées par le protocole de recherche ;
- à la validation des résultats ;
- à l'édition des résultats ;
- à la transmission du compte rendu ; la bonne et rapide exécution de cette opération est particulièrement importante quand la variation de certains constituants biologiques peut entraîner l'exclusion de l'étude du patient concerné ;
- à l'archivage des résultats, y compris des données brutes (en particulier suivi de l'analyse).



Dans le cas d'une étude multicentrique, il est fréquent de voir se confier à un seul laboratoire la réalisation de l'ensemble ou d'une partie des examens. Des procédures opératoires sont élaborées pour optimiser les conditions d'envoi des échantillons biologiques au laboratoire exécutant.

Si cette solution centralisée n'est pas retenue, tous les laboratoires impliqués dans l'étude, utilisent rigoureusement la même méthode de traitement et de mesure pour s'assurer de la cohérence des résultats et permettre leur exploitation.

2.1.7.3. Comptes rendus

Outre les comptes rendus concernant chaque échantillon, il est conseillé au biologiste d'établir ;

- avant le début de l'étude, un document général concernant l'ensemble de la méthode analytique, des modalités du contrôle de qualité, celles de l'expression et de la transmission des résultats.
- un document récapitulatif par personne impliquée dans l'expertise indiquant :
- les différents résultats avec la date et l'heure de prélèvement et celle de l'exécution des analyses ;
- les résultats des échantillons de contrôle avec les mêmes renseignements chronologiques ;
- les éventuelles remarques ainsi que les incidents survenus.

2.2.LES ETAPES DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

2.2.1. Phase pré analytique ^[11]

2.2.1.1. Prélèvement des échantillons :

Le biologiste fournit aux médecins prescripteurs toutes les précisions utiles aux conditions de mise en œuvre des analyses médicales. Les échantillons sont, pour certaines maladies dont le « sida » et la tuberculose, associés à une « fiche de suivi médical » comportant tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats.

La fiche de suivi médical est demandée au médecin prescripteur par le biologiste ou le responsable du laboratoire, chaque fois qu'elle est utile pour préciser la prescription ou pour la bonne exécution des analyses ou pour l'interprétation des résultats. Le prélèvement peut être effectué par le médecin prescripteur, par le biologiste ou par le personnel qualifié et autorisé. Ces personnes sont formées aux procédures de prélèvement du laboratoire, 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 responsable tout incident survenu au cours du prélèvement.

Le biologiste 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 sont appréciés avec circonspection ; le résultat fait mention de ces éventuelles réserves si cela est nécessaire.

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

2.2.1.2. 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. Des procédures et des modes opératoires écrits par le laboratoire qui effectue l'analyse, fixent les conditions particulières de délai de transport, de température de conservation et de l'intégrité de l'emballage des échantillons biologiques. Des indicateurs de durée de transmission et de rupture de la chaîne du froid sont mis en place lorsque les modalités de l'analyse le prévoient. Le biologiste transmetteur doit s'assurer du respect de ces conditions. 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. Le ou les récipients étanches contenant les échantillons biologiques sont insérés dans une boîte étanche, tassée par un matériau absorbant et l'ensemble placé dans un emballage extérieur résistant, portant les noms et adresses du laboratoire destinataire et de l'expéditeur. Ces règles s'appliquent quelles que soient la qualité du préleveur, l'origine des prélèvements et le mode de transport utilisé.

Si l'échantillon est transmis à un autre laboratoire. La « fiche de suivi médical » ou sa copie ou, à défaut, une fiche de renseignement établie par le biologiste doit y être associée.



Les dates et les heures de réception des échantillons biologiques au laboratoire destinataire sont enregistrées.

2.2.1.3. Conservation des échantillons

Les conditions de conservation sont conformes aux règles de sécurité 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. La période de validité est respectée, en particulier pour les échantillons reconstitués à partir de substances lyophilisées, qui portent la date et l'heure de reconstitution.

Toutes les précautions sont prises pour éviter les phénomènes d'évaporation et de contamination.

Avant l'exécution des analyses, si celles-ci sont différées, les échantillons et leurs fractions aliquotes sont conservés dans des conditions qui préservent leur qualité.

La congélation de fractions aliquotes obtenues après reconstitution d'échantillons lyophilisés engage la responsabilité de la biologie.

Après l'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.

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, si elle n'est pas réglementée, est fixée par le biologiste et inscrite sur les procédures opératoires.

Cas de la conservation des cultures pures ^[13].

Les laboratoires de bactériologie ont le désir et le souci de conserver les cultures des différentes espèces bactériennes isolées. Ces cultures servent de souches de référence. Elles sont fréquemment utilisées pour l'enseignement, le contrôle ou pour la recherche. L'intérêt de se référer à des souches standard est devenu si évident que des organisations nationales ou internationales se sont créées à cet effet. Leur but est le maintien en cultures pures des microorganismes tels que les levures, les champignons inférieurs, les bactéries, les rickettsies et les virus. L'une des plus célèbres est l'«American Type Culture Collection» (ATCC) située à Rockville aux Etats-Unis. En Angleterre, la plus connue est la «National Collection of Type Cultures» (NCTC). En France, la plus importante est celle de l'Institut Pasteur de Paris. Lorsqu'une nouvelle espèce est isolée, il est recommandé de l'envoyer dans plusieurs de ces organisations internationales pour la faire connaître.



Deux possibilités sont offertes aux collectionneurs pour maintenir les souches en survie et leur conserver toutes leurs propriétés. On peut simplement les cultiver sur des milieux adaptés et les transférer périodiquement sur des milieux neufs. Il est nécessaire de bien connaître le milieu le plus convenable, la température la plus favorable et la durée limite de stockage. Les précautions élémentaires suivantes sont prises pour assurer cette conservation :

- la dessiccation du milieu est évitée en bouchant soigneusement l'orifice des tubes de culture ou mieux en les scellant au chalumeau.
- la culture est conservée à l'abri de la lumière ou à la température du laboratoire ou au réfrigérateur (+ 4°C) ou dans les meilleures conditions.
- le milieu de culture est dans le cas le plus général une gélose nutritive inclinée,ensemencée en plusieurs points ou une gélose nutritive en culot,ensemencée par piqûre centrale.

Ainsi peut-on procéder avec les bactéries à croissance rapide comme le sont les Entérobactéries, les Staphylocoques, etc. Pour de nombreux autres germes, on aura recours à des milieux particuliers : sérum coagulé pour les Corynébactéries, gélose pomme de terre pour les *Brucellae*, gélose sans peptone pour les *Bacillus*, etc.

Les souches isolées dans notre cas d'étude sont conservées par congélation.

Deux paramètres importants parmi d'autres conditionnent sa mise en œuvre : le choix de la température et surtout de la vitesse d'abaissement à la température choisie.

Pour conserver dans les meilleures conditions les structures cellulaires, il convient de les congeler à la température la plus basse et d'y parvenir dans les délais les plus brefs.

❖ **Etiquettage :**

Les souches sont conservées dans un congélateur de – 65 °C à – 90 °C.

Chaque souche porte une étiquette d'identification.

E B T / D
N° B-P
N° D et G I
I P /E ₂

E = Etage du congélateur ; B = Bloc ; T = Tiroir ; D = Date

N° B-P : numéro de la boîte et position de la souche

N° D et G I : numéro de dossier du patient et germe isolé

I P /E₂ : initiale du patient /Etude 2



❖ **Contrôle de la qualité des réactifs et des milieux de culture :**

Les réactifs et les milieux de culture sont contrôlés en utilisant les souches de référence suivantes :

- *STREPTOCOCCUS pneumoniae* A T C C 49619 ;
- *HAEMOPHILUS para-influenzae* A T C C 7901 ;
- *HAEMOPHILUS influenzae* type b A T C C 49247 ;
- *STREPTOCOCCUS* groupe B A T C C 12386 ;
- *STAPHYLOCOCCUS aureus* A T C C 25923 ;
- *STREPTOCOCCUS* groupe A A T C C 19615 ;
- *ESCHERICHIA coli* A T C C 25922

Les milieux et les réactifs utilisés sont :

- les milieux de culture : gélose au sang de mouton et ou gélose au sang de cheval, gélose Mac Conkey, gélose Müller- Hinton, gélose chocolat, gélose trypticase soja.
- les réactifs permettant la réalisation des techniques suivantes :
Coloration de Gram, test de catalase, test de coagulase, test d'oxydase.
- les réactifs permettant la révélation de la galerie API 20 E,
- les disques de facteurs X, V et X+V, les disques d'optochine, les disques de bacitracine.

2.2.2. Phase analytique ^[11]

L'exécution de la technique

Dans le cadre de l'exécution d'une technique, il faut tenir compte des aspects suivants :

▪ **La maintenance préventive du matériel**

- tout matériel de laboratoire fait l'objet de techniques spécifiques d'utilisation, ici la formation aux techniques de base s'avère indispensable qu'il s'agisse de microscope, d'étuve, de centrifugeuse ou d'une simple pipette.
- un entretien journalier de l'appareillage en particulier du microscope (nettoyage, protection), une vérification régulière (réglage) permet de le maintenir en bon état.
- des fiches techniques : recommandations d'utilisation, nettoyage, vérification doivent être rédigées.

▪ **Les contrôles internes des réactifs**

- les critères de qualités d'une bonne coloration (Gram May GRUNWALD-Ziehl) doivent être connus. Tout nouveau colorant (préparé sur place ou non) doit être testé sur des lames- témoin en parallèle avec l'ancien lot de colorant.



- le pH de l'eau doit être vérifié régulièrement pour les colorations de May Grunwald Giemsa.
- de façon générale, lorsque l'activité du laboratoire justifie l'utilisation de réactifs d'identification, de milieux de culture, de disque ou de solutions d'antibiotiques, des contrôles de chaque nouveau lot sur des souches témoins sont indispensables pour assurer la fiabilité des résultats.
- les conditions de conservation de chaque réactif (délais de péremption, température, stérilité, influence de la lumière) sont parfaitement connues du technicien.

Ne pas oublier que les antiseptiques en particulier l'eau de javel, ont, pour être efficaces, des conditions particulières d'utilisation et des délais de péremption.

2.2.3. Phase post-analytique ^[11]

Cette phase concerne les aspects suivants :

2.2.3.1. La 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.

2.2.3.2. La validation analytique (responsabilité technique)

La validation analytique des examens est 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.

2.2.3.3. La validation biologique (biologiste)

La validation biologique s'assure de la comptabilité 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.



2.2.3.4. L'expression des résultats et comptes rendus d'analyses

- Expression des résultats

L'expression des résultats est précise et sans équivoque. Les valeurs de référence sont indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) sont mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat de même 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 figurent sur un papier à en-tête du laboratoire comportant les mentions fixées réglementairement et sont 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 informés de cette particularité.

- 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'analyse sont remis comme suit :

- au patient en main propre ou envoyés sous pli cacheté, à son nom et 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 met tout en œuvre pour joindre et avertir le médecin traitant ou l'équipe médicale dans les brefs délais.



Un résultat laissant présager un pronostic grave ou fatal n'est 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 demande au malade de lui désigner le médecin à qui il souhaiterait voir remettre les résultats.

Si aucun médecin n'est désigné, il appartient au biologiste d'informer lui-même le patient avec d'autant plus de prudence et de sensibilité que les résultats sont préoccupants.

Tout résultat préoccupant que le biologiste est amené à remettre ne peut être communiqué au patient qu'en main propre et au cours d'un entretien particulier. Le biologiste invite le patient à consulter un médecin traitant le plus rapidement possible.

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'usager qu'il désire.

2.3.LA DEMARCHE QUALITE ^[7]

2.3.1. Les Modes Opératoires Normalisés (MON) :

Toutes les procédures de laboratoire seront rédigées comme des Modes Opératoires Normalisés (MON) approuvés. Il existera un seul document original de MON signé par la personne qui l'a rédigée et par un superviseur ou le Chef du laboratoire. Les MON originaux seront gardés dans des classeurs appropriés et conservés dans le bureau du chef du laboratoire. Des copies certifiées par la personne qui en a fait la copie seront placées dans des classeurs au niveau des différentes unités fonctionnelles du laboratoire. Le MON est signé et daté d'abord par la personne qui l'a rédigée après avoir obtenu l'avis de toutes les personnes impliquées dans son exécution sur la base de la documentation



technique existante. Tout nouveau MON qui n'a pas obtenu son approbation finale est parafé « brouillon » et considéré comme non actuel. Une fois que le brouillon du nouveau MON a été distribué et a reçu l'approbation finale, une version officielle et originale est imprimée, signée et datée d'abord par la personne qui l'a écrite. Ce document est ensuite seulement, approuvé, signé et daté par le superviseur ou le chef du laboratoire. La date d'application du MON sera écrite par l'approbateur; cette date est dans tous les cas postérieure à la date d'approbation. Une fois approuvé et signé, l'original du MON est gardé dans le classeur des MON du bureau du chef de laboratoire. Un maximum de copies de ce document original sera fait, certifié puis, placé dans les classeurs prévus pour les MON en cours d'utilisation.

Tous les MON sont revus annuellement par la surveillante du laboratoire, les superviseurs et le chef du laboratoire et mis à jour. Si une révision à un MON existant est faite, toutes les copies de l'ancienne version sont détruites. Le document original de l'ancienne version est parafé « Non en cours » avec une date et les initiales et gardé à part dans un classeur prévu pour les MON révisés. Toutes les révisions de MON sont passées en revue et approuvées de la même façon que décrite ci-dessus.

2.3.2. Le contrôle de qualité (CQ) :

2.3.2.1. Le contrôle de qualité interne (CQI)

Les procédures de contrôle de qualité interne concernent

▪ Les tests effectués au laboratoire:

Tous les tests seront validés avant de rendre quel que résultat qui soit. Des MON seront rédigés pour décrire les procédures de contrôle de qualité pour chaque test qui sera réalisé dans le laboratoire.

Des réactifs- contrôles sont testés dans les mêmes conditions que les échantillons obtenus chez les patients et les résultats devront être enregistrés sur les feuilles appropriées d'enregistrement des résultats du contrôle de qualité. Les résultats du contrôle de qualité seront passés en revue et documentés comme acceptables ou inacceptables. Si les valeurs des réactifs contrôles sont inacceptables, une recherche des raisons sera faite et documentée. Les échantillons des patients ne seront examinés que lorsque les résultats des tests contrôle sont acceptables. Les documents de contrôle de qualité seront gardés pendant 5 ans.



▪ **L'environnement de travail**

- température et humidité de l'environnement de travail.
- propreté de l'environnement de travail.

▪ **Les équipements de laboratoire de bactériologie**

- microscopes
- congélateurs et réfrigérateurs
- incubateurs
- fours
- étuves
- autoclaves

▪ **Les tests exécutés dans les différentes disciplines de biologie clinique au laboratoire.**

▪ **Les réactifs de laboratoire** ^[19]

Tous les réactifs seront gérés et suivis pour l'étiquetage, le nombre de sorties et la date de péremption pour assurer la qualité des tests. Quand un réactif est entamé, la boîte ou flacon qui le contient sera parafé et daté par la personne qui l'a entamé. On considère que les réactifs qui ne portent pas de date de péremption sur leur conditionnement ne sont utilisés au delà de un an après qu'ils aient été entamés. Les réactifs, solutions de travail, contrôles, matériaux de calibrage et d'autres matériels datés ne seront pas utilisés lorsque leur date de péremption est dépassée (sauf situations exceptionnelles qui seront décrites dans un MON).

▪ **La calibration et la mise en service des équipements**

Tout appareil livré au laboratoire est calibré sur place avant son utilisation avec la participation du personnel qui est appelé à le manipuler.

Un calibrage au départ de l'usine ne sera pas considéré comme suffisante avant toute utilisation au laboratoire. Si une formation du personnel à l'utilisation de l'appareil n'a pas été faite avant sa livraison, la formation est assurée sur place par le fournisseur ou son représentant. Le laboratoire suivra les instructions du fabricant pour tout ce qui est relatif au fonctionnement et à l'entretien des appareils. Les centrifugeuses, pipettes et thermomètres de surveillance des températures seront calibrés tous les 6 mois. Tous les documents relatifs aux équipements seront gardés 5 ans après la mise de l'équipement hors d'usage.

▪ **Le contrôle des températures et de l'humidité**



Tous les réfrigérateurs et congélateurs sont surveillés sans interruption à l'aide des thermomètres placés dans chaque réfrigérateur ou congélateur. Les températures seront enregistrées deux fois par jour au départ du personnel de laboratoire et à la reprise du travail sur des feuilles appropriées d'enregistrement des températures. Si un relevé de température montre un chiffre qui sort de l'intervalle attendu, se référer aux MON relatifs aux actions correctives en la matière. Si en dépit des actions correctives la température demeure inattendue, transférer le contenu du réfrigérateur ou congélateur dans un autre dont les températures sont correctes et documenter toutes les actions menées en la circonstance. Comme pour les réfrigérateurs et congélateurs, les températures des unités de travail du laboratoire seront surveillées sans interruption à l'aide de thermomètres fixés au mur et enregistrées deux fois par jour selon les mêmes procédures que décrites ci-dessus. Comme les températures, l'humidité de la salle sera enregistrée deux fois par jour.

Les attitudes à adopter devant un chiffre de température ou d'humidité inacceptable de l'environnement de travail sont les mêmes que décrites pour les réfrigérateurs et congélateurs. Toute action corrective sera documentée sur un support approprié.

▪ **Approvisionnement en électricité**

Le fonctionnement du laboratoire est soutenu par un approvisionnement continu en électricité. Pour cela, un relais systématique des services de l'Energie Du Mali (EDM) par un groupe électrogène de puissance suffisante doit être prévu.

▪ **Le système d'information médicale et de communication**

L'accès du laboratoire à l'Internet est garanti. Un abonnement aux revues de biologie indispensables est fait. La communication avec les autres laboratoires et firmes est possible par courrier électronique.

▪ **La maintenance de routine ou entretien courant**

Il vise entre autre :

- **les Réfrigérateurs et congélateurs** sont nettoyés tous les 6 (six) mois.
- **les centrifugeuses** sont calibrées tous les six mois à l'aide d'un tachymètre. Les plots et supports de plots sont nettoyés chaque fois qu'une saleté apparaît.
- **les pipettes**: la précision des volumes distribués par les pipettes en cours d'utilisation est vérifiée par la méthode gravimétrique tous les 6 (six) mois et la



vérification est documentée sur la pipette par une étiquette portant la date de vérification et les initiales de la personne qui a assuré le contrôle de qualité.

- **les automates** de bactériologie (Bactec): Le nettoyage des appareils est quotidien à la fin de chaque journée de travail. Ils sont recouverts de leurs housses de protection en fin de journée.

En cas de changement de pièce dans un appareil ou d'intervention sur la partie électronique de cet appareil, ou lorsque les résultats des tests contrôles sont constamment en dehors des limites attendues malgré les actions correctives appropriées, un recalibrage est effectué et documenté.

- l'espace de travail

Les paillasses sont nettoyées à l'eau de javel à 10% chaque matin avant la reprise des activités et en fin de journée de travail.

▪ La gestion des examens des patients

Des MON seront rédigés par rapport à la collecte des échantillons, le matériel approprié, au transport des échantillons et aux critères d'acceptation et de rejet des échantillons reçus au laboratoire. Ces critères d'acceptation et de rejet seront diffusés auprès des prescripteurs de l'hôpital de manière à minimiser les rejets et à optimiser la qualité des résultats rendus par le laboratoire. Dans un premier temps le laboratoire devra fournir à chaque service le matériel approprié pour les différents tests planifiés dans ses activités. Il devra assister dans certains cas, les prélèvements d'échantillons biologiques. Tous les échantillons seront évalués à leur réception pour s'assurer qu'ils répondent à tous les critères d'acceptation pour le dosage demandé par le praticien.

▪ L'étiquetage des échantillons :

Les échantillons reçus au laboratoire ont une étiquette avec les informations suivantes:

- le nom et les prénoms du patient;
- la date de prélèvement;
- l'heure de prélèvement
- le service de provenance;
- les initiales de la personne qui a fait le prélèvement.

▪ L'enregistrement des échantillons au laboratoire :

Tout échantillon qui arrive au laboratoire sera enregistré sur une feuille de réception. Sur cette feuille de réception seront indiqués:

- l'heure de réception de l'échantillon;



- la date de réception de l'échantillon;
- l'heure de la collecte de l'échantillon;
- la date de la collecte de l'échantillon;
- les nom et prénoms des malades;
- le service de provenance de l'échantillon;
- les initiales de la personne qui a réceptionné le prélèvement.

▪ **Les critères de rejet des échantillons :**

Les échantillons reçus au laboratoire sont rejetés pour:

- absence d'étiquette d'identification;
- étiquetage incorrect;
- volume d'échantillon incorrect;
- conditions de conservation inappropriées ;
- délai trop long entre la collecte de l'échantillon et sa réception par le laboratoire;
- présence d'une hémolyse (pour les comptages cellulaires)
- présence de caillot dans le tube (pour les comptages cellulaires).

▪ **L'enregistrement des résultats d'examen au laboratoire :**

Les premiers documents de résultats d'examens du laboratoire comprennent les imprimés rendus par les machines et les résultats écrits sur des feuilles de paillasse concernant les examens pour lesquels des imprimés ne sont pas rendus à la fin du test. Ces supports des résultats donnent les informations suivantes:

- la date de l'examen effectué
- le numéro d'ordre de l'échantillon;
- les nom et prénoms du patient;
- le nom de l'examen;
- le résultat de l'examen;
- l'unité d'expression du résultat;
- les initiales du technicien qui a fait l'examen

Tous les premiers supports de résultats du laboratoire seront gardés sous clé dans des classeurs spécifiques pendant 5 ans. Les résultats sur les imprimés fournis par les machines sont transcrits quotidiennement sur des feuilles de résultats; ces feuilles de résultats sont gardées sous clé pendant 5 ans.

Tout résultat d'examen ou de contrôle de qualité est vérifié quotidiennement par un superviseur du laboratoire. Les résultats contradictoires ou critiques seront suivis conformément à ce qui a été écrit dans le chapitre «Introduction ». Toute investigation sera correctement documentée.

▪ **La gestion et la transmission des résultats du laboratoire :**



Tous les automates de mesure sont autant que possible, connectés à un système d'enregistrement automatique et de gestion des résultats de dosage (informatisation des données).

Les résultats qui seront rendus aux cliniciens seront ceux transcrits à partir des documents initiaux du laboratoire, imprimés à partir de l'ordinateur de gestion des résultats pour les tests informatisés, ou obtenus par photocopie de ces documents originaux. Aucun résultat ne sera rendu par écrit avant sa validation par un superviseur du laboratoire. En cas d'urgence certains résultats peuvent être rendus par téléphone par le superviseur ou le chef du laboratoire. Le document rendu au clinicien fournit les informations suivantes:

- la date de l'examen;
- l'identité du patient
- le nom de l'examen;
- le résultat obtenu;
- l'unité de mesure;
- les valeurs de référence du laboratoire (si disponible);
- la signature du superviseur, du chef du laboratoire ou d'une personne déléguée.

2.3.2.2. Contrôle de qualité externe (CQE)

Le laboratoire s'inscrira dans un programme de contrôle de qualité externe qui lui permettra de recevoir régulièrement des échantillons d'Institutions ou Organismes de référence pour tester les aptitudes et la performance de son personnel et de ses appareils. Ce contrôle concernera tous les domaines de biologie clinique du laboratoire. Les résultats des tests effectués dans le cadre de ce programme seront gardés au laboratoire pendant au moins 10 ans.

La pratique des tests sera faite de telle façon que chaque technicien de laboratoire puisse être évalué par le test d'aptitude externe au moins une fois tous les ans. Les résultats de ces tests seront enregistrés dans le dossier de chaque technicien et passés en revue annuellement. Les résultats inacceptables seront étudiés par le superviseur du domaine concerné et documentés correctement; des mesures correctives seront prises et suivies pour apporter et constater une amélioration.

2.3.3. Qualifications du Personnel

Des dossiers individuels seront gardés pour chaque personnel du laboratoire dans le bureau du chef de laboratoire sous clé. Chaque dossier contiendra les éléments suivants:

- un Curriculum Vitae à jour;
- une copie du diplôme le plus élevé;
- la documentation de toute la formation reçue par l'agent;



- les résultats des tests annuels d'aptitude;
- une documentation de la vaccination contre l'hépatite virale B ;
- un document d'échantillon de signature, d'écriture et des initiales de la personne.

Tous les dossiers seront revus au moins une fois par an par les superviseurs et le chef du laboratoire avec la personne intéressée. Un programme de recyclage ou de nouvelles formations sera établi chaque année et adressé au directeur de l'hôpital pour programmation et exécution. Un contrôle des formations reçues par chaque employé du laboratoire sera effectué annuellement. Les insuffisances et les actions correctives prises seront documentées.

2.3.4. La sécurité au laboratoire

Tout le personnel du laboratoire est formé dans la manipulation appropriée du matériel biologique et des réactifs. Un certain nombre de MON doivent être rédigés, discutés, approuvés et suivis scrupuleusement par le personnel. Ces MON seront relatifs:

- à la sécurité générale au laboratoire;
- aux accidents d'exposition au sang et déchets infectieux;
- sécurité contre l'incendie et aux procédures d'évacuation en cas d'incendie;
- à la manipulation des produits chimiques;
- à la gestion des déchets.

Tout nouveau personnel subira une formation obligatoire aux mesures générales de sécurité au laboratoire ainsi qu'à la manipulation des produits potentiellement infectieux. Cette formation sera documentée par un certificat qui sera inséré dans le dossier individuel de la personne qui a reçu la formation. La vérification des connaissances sur la sécurité au laboratoire sera annuelle.

Le laboratoire reçoit l'équipement nécessaire pour s'assurer que le personnel est protégé contre des accidents possibles du lieu de travail: gants, blouses, lunettes, trousse de secours, les stations de lavage des yeux, anti-rétroviraux, extincteurs de feu. Un MON sera écrit sur l'attitude à tenir en cas d'exposition du personnel à un produit potentiellement infectieux après une blessure accidentelle (piqûre par une aiguille par exemple).

Un système de traitement des déchets est mis en place prenant en compte, la séparation des types de déchets, le stockage des déchets et produits chimiques, la destruction appropriée de chaque type de déchet. Un incinérateur adapté aux types de déchets générés par les activités de laboratoire est mis en place et un personnel est formé spécifiquement à son utilisation.



Pratique de Sécurité ^[9]

L'attitude et la manière d'agir de ceux qui travaillent dans un laboratoire déterminent leur propre sécurité ainsi que celle de leurs collègues et de la collectivité.

Les règles de base suivantes s'appliquent dans tous les laboratoires où l'on utilise des agents infectieux ou toxiques :

- le personnel du laboratoire et toutes les autres personnes.
- l'agent de sécurité biologique (ASB).

Le laboratoire est gardé propre et en ordre.

Les vêtements protecteurs, les blouses et gants sont obligatoires.

En ce qui concerne des pratiques :

- il est interdit de manger, de boire, de fumer, de ranger des aliments,
 - le pipetage avec la bouche est interdit quelle que soit la substance.
 - les cheveux longs sont attachés.
 - le personnel se lave les mains après avoir enlevé les gants, avant de quitter le laboratoire et chaque fois qu'il a manipulé du matériel contaminé ou soupçonné de l'être.
 - les surfaces de travail sont décontaminées au moyen d'un désinfectant approprié à la fin de la journée et chaque fois qu'un matériel pouvant être dangereux a été répandu accidentellement.
 - les surfaces de travail instables ou fissurées sont remplacées ou réparées.
- En ce qui concerne des panneaux de mise en garde.
- l'utilisation d'aiguilles, de seringues et d'autres objets pointus serait strictement limitée.

2.3.5. Indicateurs de l'assurance de la Qualité au laboratoire

L'assurance de qualité sera évaluée par des indicateurs qui seront analysés pour permettre d'entreprendre, grâce à des seuils pré-établis, des investigations et des actions correctives en cas de besoin. Ces indicateurs seront relatifs:

- Aux tests de contrôle de qualité externe :

Le niveau d'aptitude attendu serait de 100%.

Tous les résultats des tests seront revus deux fois par an. Lorsqu'un personnel est identifié comme insuffisant selon ces tests, un recyclage de la personne sera entrepris.

- A l'évaluation du personnel :

Les dossiers du personnel seront revus une fois par an par le chef de laboratoire



et les superviseurs, puis avec les intéressés. Les domaines à améliorer seront précisés et les solutions d'améliorations seront documentées et rapportées au Directeur de l'hôpital avec ampliation à la CME par le chef du laboratoire.

- Au niveau des connaissances du personnel sur les procédures de sécurité :

Le niveau attendu pour la première année sera de 75%. Ce niveau atteindra 90% dès la deuxième année après la relance des activités.

Tous les ans, le personnel du laboratoire sera noté sur la base d'un test écrit relatif à la sécurité au laboratoire.

- Aux tests de contrôle de qualité interne :

Le niveau de performance attendu égalera 80% la première année, 100% à partir de la deuxième année.

Tous les supports écrits de contrôle de qualité des machines seront revus mensuellement.

- Aux erreurs d'étiquetage des échantillons soumis à analyse :

Ces erreurs n'excéderont pas 20%. Le pourcentage des échantillons non étiquetés correctement sera évalué tous les trois mois.

- Aux taux de rejet des échantillons :

Ce taux est inférieur à 2% pour les prélèvements effectués au laboratoire ou par le personnel du laboratoire. Des efforts seront demandés au personnel infirmier des services d'hospitalisation ou de consultation pour maintenir le taux de rejet en dessous de 5%. Ces taux seront évalués tous les trois mois.

- Au report des résultats critiques :

Les résultats dits «critiques» sont les résultats anormaux qui impliquent potentiellement une décision médicale urgente (ex: hypercalcémie ou hyperkaliémie importante). On s'attend à ce qu'au moins 98% des résultats critiques soient rapportés au service demandeur dans un délai de moins d'une heure après leur validation technique. Le nombre de résultats critiques et les cas de report des résultats seront évalués tous les six mois.

- A la documentation des actions correctives :

La documentation de toute action corrective prise au sujet des appareils de mesure sera revue tous les six mois. Toute action corrective qui n'avait pas été



documentée correctement sera explorée. La documentation des actions correctives se fera dans 100% des cas.

- **Aux enregistrements de la maintenance :**

Tous les supports de la maintenance (feuilles de température, feuilles de maintenance annuelle ou semestrielle, feuilles de procédures de démarrage ou d'arrêt) sont revus deux fois par an. Tous les supports sont complets. Le niveau de performance attendu sera de 100%.

- **Au délai entre le lancement d'une commande et la disponibilité du produit commandé :**

Ce délai n'excédera pas 4 semaines pour les réactifs et le matériel consommable, 3 mois pour les équipements lourds. Une évaluation du nombre de commandes et des délais de réception des produits commandes sera faite tous les six mois. Le taux de satisfaction serait de 100%.

- **Au délai d'intervention d'un service extérieur sur un appareil après la demande par un superviseur ou le chef du laboratoire :**

Ce délai n'excédera pas 12 heures quelque soit le type de problème pour tous les appareils livrés par une firme dont le représentant est sur place qui sont sous contrat de garantie. Le taux de respect du délai égalera 100%.^[15]

METHODOLOGIE



3. METHODOLOGIE

3.1. LE CADRE D'ETUDE

Notre travail sur la démarche qualité a été réalisé dans le laboratoire de l'Hôpital Gabriel TOURE situé en plein centre de Bamako. C'est l'ancien Dispensaire Central de Bamako, devenu le deuxième Hôpital National du pays et qui porte le nom d'un jeune médecin mort à la tâche. Le laboratoire actuel est l'ancienne pharmacie de l'hôpital réaménagée en laboratoire. Il comprend une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde et un bureau du chef de service. La salle de prélèvements et celle de parasitologie sont annexées au bâtiment principal.

En février 2002 une partie du laboratoire a été aménagée pour les activités de bactériologie et équipée en conséquence avec :

- 2 hottes à flux laminaire avec incinérateur électrique pour la stérilisation des anses;
- 3 automates d'hémocultures Bactec 9050 ;
- 1 incubateur à CO₂ pour les bactéries aéro- anaérobies ;
- 1 incubateur sans CO₂ pour les bactéries aérobies, les antibiogrammes et les galeries d'identification API 20E ;
- 1 centrifugeuse ;
- 1 congélateur à - 80 °C pour la conservation des souches bactériennes
- 1 congélateur à -20 °C pour la conservation des disques d'antibiotiques, des disques d'identification (Optochine, Bacitracine) des facteurs de croissance des Haemophilus ;
- 2 réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture et des réactifs ;
- Des micro-ordinateurs avec un système de communication Internet ;
- 1 microscope Olympus CX31 ;
- 1 néphélomètre Mc Farland pour les mesures de turbidité en vue des antibiogrammes conformément à la méthode de KIRBY BAUER ;

De petits matériels divers, des consommables et un ravitaillement régulier en milieux de culture et réactifs permettent de réaliser les activités de bactériologie.

Le personnel comprend :

- un pharmacien biologiste ;
- un pharmacien ;
- des internes ;
- des assistants de biologie ;
- des techniciens supérieurs ;
- un personnel de surface.



Les techniciens de laboratoire sont repartis entre les différentes sections de biologie, dont deux de la section de bactériologie ont bénéficié d'un stage de formation à Baltimore (USA).

Les activités de bactériologie dans le cadre de la recherche sont supervisées par un Professeur de bactériologie- virologie actuellement Directeur de l'INRSP et un superviseur Professeur au CVD Baltimore (USA).

3.2. TYPE D'ETUDE

L'étude a été rétrospective de février 2002 à décembre 2004 et prospective de janvier 2005 à mars 2006. L'étude prospective concerne la surveillance du laboratoire (contrôle de qualité interne) et l'envoi des souches cliniques à l'extérieur (contrôle de qualité externe). Celle rétrospective était basée sur les cas de maladies bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie. Après, elle a pris en compte ceux non hospitalisés, dans les années qui ont suivi.

Après avoir obtenu un consentement éclairé, une hémoculture est réalisée chez chacun des enfants inclus.

Dans certains cas, et selon le contexte clinique, un examen cytbactériologique du liquide céphalo- rachidien ou de liquides stériles d'autres sites (lombaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) est réalisé.

▪ Durée de l'étude

La durée de l'étude a été de 5ans (de février 2002 à mars 2006).

3.3. CRITERES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION

▪ Critères d'inclusion

Ont été inclus dans cette étude, les enfants de la pédiatrie qui ont subi un prélèvement de CVD et répondant aux critères suivants :

- être âgé de moins de 17 ans,
- avoir une température corporelle ≥ 39 °C à l'examen clinique ;
- avoir une "Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive" (SIBI) ;
- avoir le consentement éclairé des parents pour les enfants âgés de moins de 13 ans ;
- avoir obligatoirement l'assentiment des enfants de 13 à 17 ans.



■ Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus dans l'étude :

- les nouveau-nés malades n'ayant jamais quitté l'HGT depuis leur naissance ;
- les enfants âgés de 13 à 17 ans incapables ou refusant de donner tout consentement, pas à cause de la gravité de sa maladie ;
- les enfants dont le parent ou l'accompagnant était incapable ou refusait de donner un assentiment.

3.4.LA RECEPTION DES PRELEVEMENTS AU LABORATOIRE

Dans le cadre de la démarche qualité, et pour une bonne traçabilité, les prélèvements reçus au laboratoire étaient écrits dans les registres de laboratoire et saisis sur support informatique. Il existe 3 registres :

- 1 registre pour l'enregistrement des hémocultures ;
- 1 registre pour l'enregistrement des LCR ;
- 1 registre pour l'enregistrement des autres prélèvements (Liquide articulaire, liquide pleural, liquide sous cutané etc...)

Chaque registre comprenait :

- une partie de renseignements démographiques (nom et prénoms, sexe, age, résidence etc...)
- une partie de données des résultats préliminaires (résultats de la coloration de Gram pour les hémocultures positives, résultats de coloration de Gram sur les LCR directs, résultats de tests d'agglutination, résultats du comptage cellulaire GB et GR sur le LCR etc...)
- une partie comportant le résultat final des cultures du LCR, des hémocultures etc...
- une partie comportant le profil antibiologique des bactéries isolée.

3.5.PRESENTATION DES METHODES

3.5.1. L'appareil BACTEC 9050 et les bouillons de culture

L'appareil BACTEC 9050

L'appareil « Bactec 9050 de chez Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md. » et d'autres automates d'hémoculture comme le "BacT- ALERT 3D Combination de chez bioMérieux", utilisent des méthodes de détection des flacons positifs basées sur différentes mesures du CO₂. Les microorganismes présents dans les bouteilles Bactec libèrent du CO₂ qui réagit avec un colorant

présent dans le capteur de l'appareil. Ceci module la quantité de lumière qui est absorbée par un composant fluorescent du capteur. Les détecteurs photosensibles de l'instrument mesurent l'intensité de la fluorescence, laquelle correspond à la quantité de CO₂ libérée par les microorganismes. La mesure est ensuite interprétée par le système en fonction des paramètres de positivités pré-programmés. ^[2]

Le système « BacT- ALERT 3D Combination » fonctionne grâce à une technologie colorimétrique développée par bioMérieux, la croissance des microorganismes dans chaque flacon est constamment surveillée par un réflectomètre très sensible. Tout changement de statut des flacons est enregistré par un signal sonore et visuel comme pour le Bactec. ^[4]

La capacité de l'automate Bactec 9050 est de 50 flacons. Celle de « BacT-ALERT 3D Combination » est de 120 flacons. Chez chacun de ces fabricants il existe d'autres automates de grande capacité.

Un volume de 5 ml de sang est prélevé sur le patient et injecté directement dans les flacons d'hémoculture qui sont saisis dès que possible dans l'appareil pour garantir son efficacité. Il s'agit d'une innovation par rapport à l'hémoculture classique qui demande un volume de 10 ml de sang.

Le Bactec 9050 fonctionne par un système d'agitation continue des flacons versus intermittent des Bactec des séries de grande capacité (Bactec 9120 et Bactec 9240).



Figure 1 : Bactec 9050

✚ Les bouillons de culture

Il existe 5 types de flacons Bactec :

- **BD Bactec™ PLUS/F**

Ces milieux de culture contiennent des résines qui neutralisent une grande variété d'antibiotiques et permettent d'améliorer la mise en évidence des germes chez les patients sous antibiothérapie.

- **BD Bactec™ Lytic/10 Anaerobic/F**

Ce milieu contient un agent lytique qui permet de détecter plus rapidement des organismes en partie phagocytés par les leucocytes.

- **BD Bactec™ MYCOSIS-IC/F**

Ce milieu fongique facilite la mise en évidence de levures qui peuvent être masquées par la prolifération bactérienne dans la culture.

- **BD Bactec™ MYCO/F LYTIC**

Ce milieu 7H9 supplémenté a été spécialement développé pour la détection des mycobactéries, levures et champignons dans le sang. Il contient un agent lytique qui permet de détecter plus rapidement des organismes en partie phagocytés.

- **BD Bactec™ PEDS PLUS/F**

Ce milieu conçu pour les échantillons de faible volume permet d'optimiser la détection des germes pathogènes courant chez les enfants.

Ce flacon BD Bactec™ PEDS PLUS /F étant utilisé pour sa conception à la détection des germes pathogènes courants chez les enfants, ceci exclut d'autres pathogènes dont la détection est assurée par les autres types de flacons Bactec. [3]

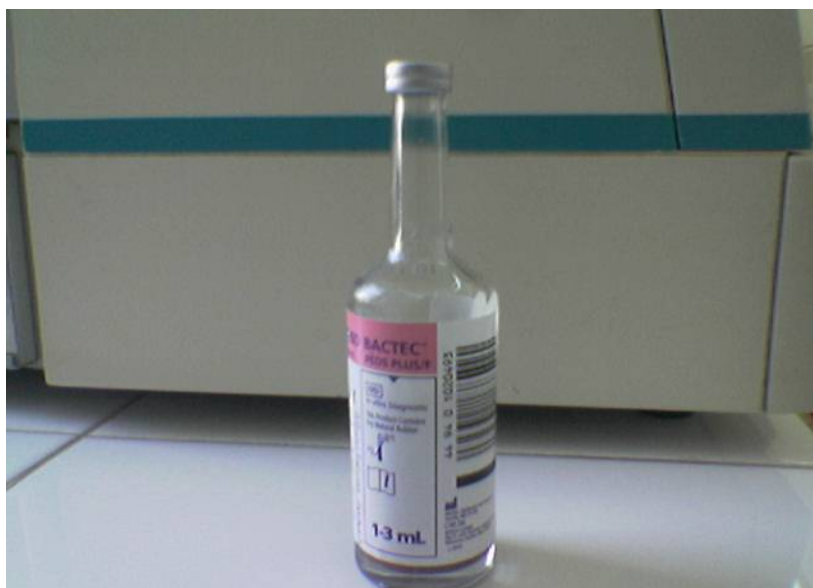


Figure 2 : Flacon BD Bactec™ PEDS PLUS/F



Composition du bouillon BACTEC 9050

Avant analyse, les flacons de culture BACTEC PEDS PLUS/F contiennent les réactifs suivants :

Liste des composants :

(les pourcentages correspondent au poids par rapport au volume)

Eau traitée	40 ml
Bouillon digéré de soja- caseine	2,75 %
Extrait de levure	0,25 %
Digestion de tissu animal	0,10 %
Pyruvate de sodium	0,10 %
Dextrose	0,06 %
Sucrose	0,08 %
Hémine	0,0005 %
Méladione	0,00005 %
Polyanéthol Sulfonate de Sodium (PSS)	0,020 %
Chlorhydrate de pyridoxal (vitamine B6)	0,001 %
Résine absorbante non ionique	10,0 %
Résine échangeuse de cations	0,60 %

3.5.2. Protocole de techniques des hémocultures positives ^[17]

Les procédures suivantes sont suivies lorsque le Bactec 9050 indique que l'hémoculture est positive :

– la bouteille du Bactec 9050 est retirée de l'appareil. Sa capsule en plastique est désinfectée avec de l'alcool, ensuite une aiguille de subculture est insérée à travers la capsule et immédiatement après préparer une coloration de Gram ainsi qu'une subculture de l'échantillon de sang en utilisant les milieux suivants selon le cas :

- a.** milieu de gélose au sang de cheval ou de mouton ;
- b.** milieu de gélose Mac Conkey ;
- c.** milieu de gélose chocolat ;

Sont écrits sur chaque boîte le numéro du Bactec, les initiales du patient ainsi que la date ;

– reporter tous les résultats sur la fiche de travail ;

– procéder à la lecture de la coloration de Gram :



a. si aucun micro- organisme n'est détecté sur la lame de coloration, remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Ceci devrait être fait le plus tôt possible dans les 3 heures qui suivent la sortie du flacon. Dans les 3 heures, le flacon de Bactec doit être subcultivé sur la boîte de gélose au sang, la boîte de gélose Mac Conkey et la boîte de gélose chocolat. Les boîtes et la bouteille sont incubées et observées pendant une durée de 5 jours (à compter de l'incubation de la bouteille). La bouteille est encore subcultivée si au bout de ces 5 jours aucun microorganisme n'a toujours pas été identifié ;

b. quand des micro-organismes sont détectés, ne plus remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Reporter sur la fiche de travail les résultats de la coloration de Gram (par exemple : CGPgr, CGPpr, CGPch, BGP, BGN, CoccoBGN, DCGN, Levures...);

– le service de pédiatrie est informé d'un résultat positif de la coloration de Gram ;

– lorsque des cocci Gram-positif en paires ou en chaînettes sont observés, placer un disque de bacitracine (A) et un disque d'optochine (P) sur la gélose au sang de la subculture ;

– les boîtes contenant les subcultures sont placées dans l'incubateur à CO₂.
Si la coloration de Gram est positive, la bouteille est incubée avec les boîtes ;

– lorsqu'une croissance est observée, reporter sur la fiche de travail les références des boîtes dans lesquelles des colonies ont été observées. Faire une coloration de Gram sur ces colonies et reporter les résultats sur la fiche de travail. S'il existe plusieurs genres de colonies, l'aspect de chaque colonie bactérienne est aussi reporté ;

– dans les cas où des cocci Gram-positif sont observés, se référer à l'organigramme de travail comme suit :

a. enregistrer les résultats des tests des disques d'optochine et de bacitracine ainsi que le test de la catalase ;

b. si le micro- organisme est catalase- positif et ressemble au Staphylocoque (cocci Gram-positif en grappes), faire un test de coagulase. Si le micro-organisme est coagulase- positive, il faudrait l'enregistrer comme étant *STAPHYLOCOCCUS aureus*. Si le micro- organisme est coagulase négatif après 24 heures, il faudrait l'enregistrer comme étant *STAPHYLOCOCCUS* à coagulase négative;

c. lorsque le micro- organisme est catalase- négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine- positif (inhibé par la bacitracine), enregistrer le micro- organisme comme étant *STREPTOCOCCUS* Groupe A ;



- d. au cas où le test à la bacitracine ou à la catalase est flou, faire un PYR test. Si le PYR test est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *STREPTOCOCCUS* groupe A ;
- e. dans le cas où le micro- organisme est catalase négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine négatif, faire les tests d'agglutination des streptocoques des groupes A et B. Enregistrer le micro- organisme comme étant *STREPTOCOCCUS* bêta-hémolytique de groupe A, de groupe B ou non groupable ;
- f. quand le micro- organisme est catalase négative, optochine- positif (inhibé par le disque d'optochine) et diplocoque Gram-positif, l'enregistrer comme étant *STREPTOCOCCUS pneumoniae*. Si le test d'optochine est négatif ou non concluant, faire un test de «bile solubility». Si ce test de solubilité par la bile est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *STREPTOCOCCUS pneumoniae* ;
- g. lorsque le micro- organisme ressemble au *STREPTOCOCCUS* (catalase négative, cocci Gram-positif en chaînette), mais négatif au test du disque d'optochine et négatif au test de solubilité par la bile, effectuer le PYR test.
- h. au cas où le résultat du PYR test est positif, enregistrer le micro- organisme comme étant *ENTEROCOCCUS species*. Si le résultat du PYR test est négatif, enregistrer le micro-organisme comme étant *STREPTOCOCCUS* alpha ou gamma hémolytique selon la réaction d'hémolyse ;

– quand le micro- organisme est un bacille Gram-positif, aucun test additionnel n'est effectué, enregistrer seulement «Bacille Gram- Positif» ;

– lorsque des bactéries Gram-négatif sont observées, la référence est faite à l'organigramme ainsi qu'il suit :

- a. si le micro- organisme pousse sur la gélose au sang et la gélose Mac Conkey faire un test d'oxydase et inoculer une galerie API 20 E. Les Enterobacteriaceae (tels que *ESCHERICHIA*, *SALMONELLA*, *SHIGELLA*) sont oxydase- négatifs ; les *VIBRIO* et les *PSEUDOMONAS* sont oxydase positive. Si les micro-organismes isolés sont identifiés comme étant *SALMONELLA*, *SHIGELLA* ou *VIBRIO*, confirmer le résultat par un test de sérotypage. Enregistrer le résultat de ces différents tests ;
- b. lorsque le micro-organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais ne pousse pas sur la gélose Mac Conkey et est diplocoque Gram-négatif, *NEISSERIA meningitidis* pourrait être suspecté. Il faudra faire un test d'oxydase. Si l'identification préliminaire indique *NEISSERIA meningitidis*, le confirmer par un test de sérotypage ;
- c. quand le micro- organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais pas sur la gélose Mac Conkey et se présente comme de petits bacilles Gram-négatif, nous pouvons suspecter *HAEMOPHILUS influenzae*.



Faire un test d'oxydase et un test des facteurs X et V. Dans le cas où l'identification indique *HAEMOPHILUS influenzae*, le confirmer par un test de sérotypage ;

– procéder à un antibiogramme par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer ;

– enregistrer le résultat dans le registre de laboratoire et informer le médecin du patient de l'identification finale.

3.5.3. Protocole et méthode de travail des cultures du LCR et des autres liquides biologiques ^[17]

Les procédures suivantes ont été suivies pour le traitement et l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien.

3.5.3.1. Traitement des prélèvements de LCR

Les prélèvements étaient reçus au laboratoire dans des tubes stériles et étaient immédiatement identifiés puis enregistrés dans le registre de laboratoire.

Le reste du travail se fera sous une hotte à flux laminaire.

Les tests sur le LCR étaient réalisés dans l'ordre suivant :

- les boîtes de gélose étaient identifiées (le numéro d'enregistrement, le type de prélèvement, la date de travail étaient écrits) idem pour la lame devant recevoir le frottis ;
- sur les géloses au sang de cheval et ou chocolat 2 à 3 gouttes de LCR étaient déposées puis les boîtes de gélose étaient refermées. Laisser imbiber la gélose par le LCR pendant quelques minutes ;
- une goutte de LCR était déposée sur une lame propre en vue de confectionner un frottis;
- après avoir laissé sécher le frottis, il était fixé par "chauffage" de la lame à l'incinérateur de la hotte pendant 5 secondes au maximum ;
- l'hémocytomètre de LCR (cellule de Kova) était rempli et ensuite laissé au repos pour le comptage cellulaire ;



- puis les 2 à 3 gouttes de LCR préalablement déposées sur la gélose au sang de cheval ou de mouton ; la gélose chocolat et la gélose Mac Conkey, étaient ensemencées. Les boîtes étaient ensuite mises dans l'incubateur à CO₂ en les renversant ;
- les tests d'agglutination avec le sérum latex Pastorex meningitis kit étaient ensuite réalisés, dont le principe était le suivant :
Les réactifs Slidex méningite, constitués de particules de latex sensibilisées par des antisérums spécifiques, permettent, par une technique d'agglutination rapide sur carte, de détecter l'antigène correspondant dans le prélèvement. Le coffret de ces réactifs contenait :
 - réactif R1 : Latex *HAEMOPHILUS influenzae* type b
 - réactif R2 : Latex *STREPTOCOCCUS pneumoniae*
 - réactif R3 : Latex *NEISSERIA meningitidis* groupe A
 - réactif R4 : Latex *NEISSERIA meningitidis* groupe B/ *ESCHERICHIA coli* K1
 - réactif R5 : Latex *NEISSERIA meningitidis* groupe C
 - Réactif R6 : Contrôle Positif, extrait antigénique de : *HAEMOPHILUS influenzae* type b. ^[18]
- procéder à la coloration de Gram ;
- le reste du prélèvement de LCR étaient gardé dans le réfrigérateur pendant 5 jours.

Les autres liquides biologiques (liquide pleural, liquide péricardique, liquide articulaire) étaient traités comme le LCR.

Les résultats suivants étaient notifiés au service de pédiatrie dans les deux heures qui suivent la réception du prélèvement au laboratoire, il s'agit :

- du résultat de la coloration de Gram ;
- du résultat du comptage cellulaire ;
- du résultat des tests d'agglutination.

"Une fiche de travail LCR" était préparée pour y enregistrer le nom du patient, le numéro de dossier et la date du prélèvement. Tous les résultats des tests étaient enregistrés sur cette fiche de travail.

3.5.3.2. Protocole de travail de la Culture du LCR

- les géloses au sang et au chocolat étaient examinées tous les jours pendant 5 jours et les résultats étaient enregistrés sur la fiche de travail.



- si une colonie bactérienne était observée sur les géloses, une coloration de Gram était effectuée. Les résultats de la coloration de Gram ainsi que la description des colonies étaient enregistrés sur la fiche de travail.
Le service de pédiatrie était informé de la positivité de la culture du LCR.
- suivre les procédures d'identification pour les cultures positives.

3.5.3.3. Résultat de la culture

Les milieux sélectifs le plus souvent utilisés pour l'isolement des *Salmonella* étaient le milieu *SALMONELLA- SHIGELLA (S S)* et le milieu *Hecktoen*. Sur le milieu *S S*, les colonies de *SALMONELLA* apparaissent incolores, à centre noir, car elles ne fermentent pas le lactose et produisent du H_2S . Ces colonies peuvent se confondre à celles d'autres comme les *PROTEUS*.

Les colonies de *SALMONELLA* après 18 – 24 heures d'incubation à 37°C étaient lisses et mesuraient 2 à 3 mm de diamètre. Des colonies naines s'observaient rarement, de même que des colonies rugueuses ou des colonies muqueuses ressemblant à des colonies de *KLEBSIELLA*.^[14]

L'aptitude à donner des colonies muqueuses était souvent perdue après quelques mois de conservation culture la température optimale est de 35 à 37 °C.

3.6. TECHNIQUES UTILISEES

3.6.1. Coloration de gram

Principe

La coloration de Gram est la plus importante dans le laboratoire de microbiologie. Les bactéries peuvent être divisées en micro-organismes de Gram positif et en micro-organismes de Gram négatif. Les bactéries de Gram positif retiennent la coloration violette du Violet de Gentiane (ou du Cristal Violet) et auront une teinte bleue au microscope. Les bactéries de Gram négatif peuvent être décolorées, leur enlevant ainsi la coloration violette du Violet de Gentiane avec une solution d'alcool- acétone. Les bactéries sont ensuite colorées en rouge avec la safranine (ou la fuchsine basique).

Parce que la coloration de Gram est très importante, elle doit être accomplie avec le plus grand soin.

Matériels et réactifs utilisés

Microscope binoculaire avec objectifs 10 et 100

Huile à immersion

Coffret de colorants de Gram contenant :



- Violet de Gentiane ou Cristal violet
- Solution de lugol
- Solution de décolorant alcool- acétone
- Safranine ou fuchsine basique

Lame porte-objet

Portoir de lame

Crayon de papier

Papier buvard

Flacon d'eau distillée

Bac de coloration

Procédure de la coloration

- utiliser une lame propre. Ecrire le nom du patient et l'identification du spécimen sur la lame avec un crayon de papier. Ne pas utiliser de stylo à bille.
- étaler l'échantillon en un frottis mince sur la lame de verre. Permettre au frottis de sécher à l'air libre. Ne pas surtout chauffer la lame pour faire sécher rapidement le frottis.
- lorsque la lame est complètement séchée, la tenir auprès de l'incinérateur pendant 5 secondes maximums.
- recouvrir le frottis de lame avec le violet Gentiane pendant 30 à 40 secondes.
- verser le surplus de la solution de Violet de Gentiane et rincer la lame avec un jet d'eau faible. Egoutter l'excès d'eau. Utiliser un faible jet d'eau pour laver la lame, sinon le spécimen se détache de la lame.
- recouvrir le frottis avec la solution Iode- iodure (Solution de Lugol) pendant 30 à 40 secondes.
- verser la solution de Lugol de la lame et la rincer avec un faible jet d'eau. Egoutter l'excès d'eau.
- goutte à goutte, verser la solution Alcool- acétone sur la lame de manière à recouvrir le frottis entièrement.
- immédiatement après, rincer la lame avec un faible jet d'eau. Egoutter l'excès d'eau.

NOTE : si la solution alcool- acétone reste trop longtemps sur la lame, les micro-organismes Gram positif pouvaient apparaître comme Gram négatif.

- recouvrir le frottis avec la solution de safranine (ou la fuchsine basique) pendant 60 secondes (2 fois plus longtemps que les autres étapes).
- verser la safranine, rincer la lame en la tenant sous un faible jet d'eau. Egoutter l'excès d'eau. Prudemment, sécher la lame avec du papier buvard. Ne pas surtout froter la lame pour la faire sécher

Interprétation



La clé dans l'interprétation de la coloration de Gram est d'identifier la morphologie des micro-organismes (Exemple : cocci, bacilles) ainsi que leur relation les uns par rapport aux autres (Exemple : cellules isolées, en paires en chaînette et en grappes). La reconnaissance de ces caractéristiques peut aider à l'interprétation de la coloration de Gram.

Par exemple :

Cocci Gram positif en grappes = Staphylocoques

NOTE : Aucun cocci Gram négatif en grappes n'existe, ainsi les cellules qui apparaissent Gram négatif sont probablement des cocci Gram positif qui ont été décolorés trop longtemps.

Cocci Gram positif en chaînettes = Streptocoques

NOTE : Il n'existe pas de cocci Gram négatif en chaînettes.

Cocci Gram positif en paire = *STREPTOCOCCUS pneumoniae* ou *ENTEROCOCCUS*

NOTE : Ces cocci sont allongés et attachés à leur bout.

Bacilles Gram positif Plusieurs micro-organismes

NOTE : Il existe plusieurs bacilles à Gram positif comprenant *CORYNEBACTERIUM*, *LACTOBACILLUS*, *PROPIONIBACTERIUM*.

Cocci Gram négatif en paires = *NEISSERIA*

NOTE : Les cocci Gram négatif les plus communs sont arrangés en paire (diplocoque) et attachés par leur côté. Ils ressemblent à des grains de café.

Bacilles Gram négatif = Plusieurs micro-organismes

NOTE : Il existe plusieurs bacilles Gram négatif comprenant *HAEMOPHILUS*, *ESCHERICHIA*, *SALMONELLA*, *SHIGELLA*, *PSEUDOMONAS*, *VIBRIO*, *HAEMOPHILUS* sont des bacilles courts et minces ; les bactéries entériques (*ESCHERICHIA*, *KLEBSIELLA*, *SALMONELLA*, *SHIGELLA*) sont plus longues, plus épaisses et sont mieux colorées aux extrémités qu'au centre.

✚ Résultats possibles à reporter :

Si un bacille Gram négatif ressemble à un *HAEMOPHILUS*, donner comme résultat « bacille Gram négatif semblable à un *HAEMOPHILUS* ». Si un bacille Gram négatif ressemble à une bactérie entérique, donner comme résultat « bacille Gram négatif semblable à un bacille entérique ». Si on ne peut pas préciser, donner comme résultat « bacille Gram négatif ».

✚ Contrôle de Qualité :

- ne pas chauffer la lame pour la sécher.
- s'il y a des globules blancs, ils doivent être rouges. Si un globule blanc est bleu en entier, donc la lame n'a pas été décolorée de façon appropriée. Dans ce cas, refaire la coloration sur un nouveau frottis. ^[18]



Figure 3 : Coloration de Gram (Cas des Bacilles Gram négatifs)

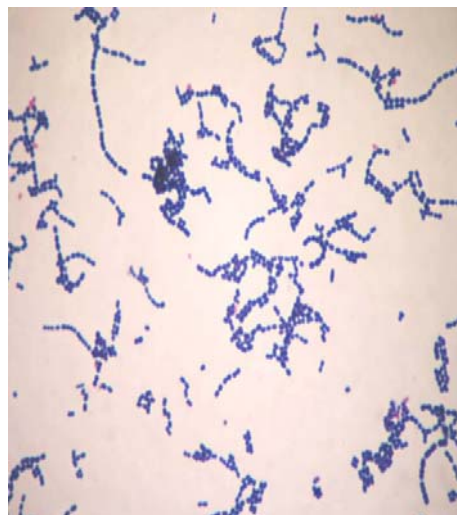


Figure 4 : Coloration de Gram (Cas des Cocci Gram positifs)



3.6.2. Test de la Catalase

Principe :

Le test de la catalase est un examen important pour identifier les micro-organismes, en particulier les bactéries de Gram-positif. Cette enzyme est utilisée par les micro-organismes aérobies pour se protéger des produits toxiques de la croissance en aérobiose (c'est à dire peroxyde d'hydrogène). L'enzyme la catalase peut convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Une façon facile de mesurer la catalase est de mélanger la bactérie avec une goutte à 3% de peroxyde d'hydrogène. Si la catalase est présente, des bulles d'oxygène se produisent.

Matériels et réactifs utilisés :

- Peroxyde d'hydrogène à 3%
- Lame de verre
- Anse

Procédure:

- sur une lame de verre propre, on place une colonie bactérienne. On enlève la colonie bactérienne de la gélose avec une anse en faisant très attention pour ne pas prendre de la gélose.
- on place une goutte à 3% de peroxyde d'hydrogène sur la colonie bactérienne.
- une réaction positive est indiquée par des bulles qui se produisent en 10 secondes.

Interprétation:

Réaction positive = Formation de bulles (exemple : *STAPHYLOCOCCUS*)

Réaction négative = Aucune formation de bulles en 10 secondes (exemple : *STREPTOCOCCUS*)

Le test de la catalase est plus utilisé pour séparer les *STAPHYLOCOCCUS* des *STREPTOCOCCUS*.

NOTE : les globules du sang contenus dans la gélose au sang contiennent de la catalase et donneront une fausse réaction positive. ^[18]

Aspect du test positif



Figure 5 : Test de catalase



Test de la Coagulase

✚ Principe :

Le test de la Coagulase est utilisé pour séparer les *STAPHYLOCOCCUS aureus* de tous les autres *STAPHYLOCOCCUS* (exemple : *STAPHYLOCOCCUS* à coagulase négatif appelé aussi *STAPHYLOCOCCUS spp.*).

Ceci est une distinction importante parce que *STAPHYLOCOCCUS aureus* est l'espèce de *STAPHYLOCOCCUS* responsable de la plupart des infections. Deux tests de la coagulase peuvent être réalisés : le test de la coagulase sur lame et le test de la coagulase dans le tube. Le test coagulase sur lame doit être réalisé en premier. Si celui-ci est négatif réaliser le même test dans le tube.

➤ Test de la Coagulase sur lame

✚ Procédure :

- mettre une petite goutte d'eau sur la lame.
- préparer une suspension épaisse de bactérie dans l'eau.
- si les bactéries restent collées ensemble dans l'eau le test de la coagulase sur lame ne sera pas réalisé. Jeter les lames et réaliser un test de la coagulase dans le tube.
- si une suspension homogène est fait dans l'eau, mélanger une petite goutte de plasma de lapin avec la suspension bactérienne.

✚ Interprétation :

Réaction positive : La suspension bactérienne agglutinera dans le plasma entre 10 à 15 secondes.

Réaction négative : La suspension bactérienne n'agglutinera pas.

➤ Test de la Coagulase dans le tube

✚ Procédure :

- mettre environ 0.5 mL de plasma pour coagulase dans un tube stérile.
- collecter avec une anse plusieurs colonies bactériennes et les mettre en suspension dans le plasma. La réaction se produira plus rapidement si la suspension bactérienne est dense.

- placer le tube dans l'incubateur et l'examiner après 2 heures, 4 heures, et 24 heures. Si la réaction est positive au bout de 2 ou de 4 heures, il n'est plus nécessaire d'incuber plus longtemps.

✚ Interprétation :

Réaction positive : Gélification du plasma.

Ceci peut apparaître comme une masse flottante dans le tube ou bien le plasma en entier formera un gel permettant au tube d'être complètement renversé.

Chacune de ces réactions est considérée comme Positive.

Réaction négative : Pas de prise en masse du plasma au bout de 24 heures.

STAPHYLOCOCCUS aureus peut produire deux enzymes : la Coagulase qui est mesurée dans ce test, et la Staphylokinase qui peut dissoudre le caillot. Il est important d'examiner le tube au bout de 2 ou 4 heures parce qu'un caillot peut se former dans les premières heures et par la suite être dissout par la fibrinolyse. Tout caillot qui se forme est considéré comme une réaction positive.

✚ Contrôle de Qualité :

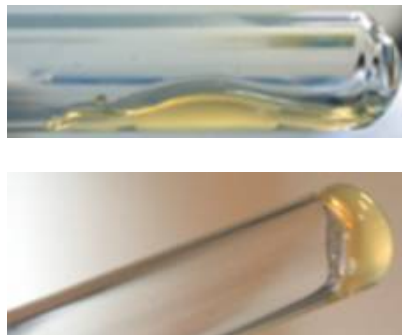
Une suspension épaisse est utilisée pour les deux tests de la coagulase.

Certaines souches de *STAPHYLOCOCCUS aureus* auront un test de la coagulase sur lame négatif. Donc tous les tests de la coagulase sur lames négatifs sont confirmés avec le test de la coagulase dans le tube. ^[18]

Aspect avant
Ensemencement



Aspect du test positif



Aspect du test négatif



Figure 6 : Test de Coagulase



3.6.3. Test d'Oxydase

Principe :

Le test d'Oxydase est un examen rapide, utilisé pour identifier les bactéries Gram négatif. Cet examen est utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand réduit) à une couleur violet- foncée (quand oxydé). Les bactéries qui possèdent le cytochrome C sont capables d'éliminer des électrons (oxyde) de cet indicateur redox, c'est pour cela que la couleur change.

Procédure :

- avec un écouvillon stérile prendre une à deux colonies de bactéries bien isolées dans la boîte de gélose (Ne pas utiliser une gélose Mac Conkey)
- placer 1-2 gouttes d'oxydase sur l'écouvillon

Interprétation :

Réaction positive : développement d'une couleur violette dans un intervalle de 10 à 30 secondes.

Réaction négative : aucune couleur ne se développe au bout de 30 secondes. Ne pas lire le test après 30 secondes à cause des faux- positifs qui peuvent se développer.

Contrôle de qualité :

- le test d'oxydase est très important pour l'indentification de bactéries Gram négatif. Les bactéries, oxydase- positives, les plus connues sont *NEISSERIA*, *HAEMOPHILUS*, *VIBRIO*, ET *PSEUDOMONAS*. Les bactéries, oxydase- négatifs, les plus connues sont les *ENTEROBACTERIACEAE*, une grande famille de bactéries qui inclut *ESCHERICHIA*, *KLEBSIELLA*, *SALMONELLA* et *SHIGELLA*.
- un test d'oxydase ne peut pas être réalisé avec des colonies de bactéries isolées sur gélose Mac Conkey parce que les colorations dans la gélose pourraient causer une réaction faussement positive. ^[18]

Aspect du test négatif



Aspect du test positif



Figure 7 : Test d'Oxydase

3.6.4. Test à la Bacitracine (Disque A)

✚ Principe :

Le test à la Bacitracine est un test utile pour l'identification des micro-organismes du Groupe A des *STREPTOCOCCUS*. La plupart des souches de *STREPTOCOCCUS* de Groupe A est inhibée par la Bacitracine alors que les autres *STREPTOCOCCUS* ne le sont pas. Ce test est seulement fait en cas de Catalase négative, avec les Cocci ayant une hémolyse Bêta sur la gélose au sang.

✚ Procédure :

- ensemercer une colonie de *STREPTOCOCCUS* Bêta- hémolytique sur une boîte de gélose au sang.
- dans la partie contenant le plus d'inoculum (c'est-à-dire, le premier domaine d'inoculation) placer un disque (A) de Bacitracine de 0,4 unité.
- incuber la boîte de gélose au sang dans l'incubateur à CO₂ pendant la nuit.
- le lendemain de l'incubation, toute zone d'inhibition observée autour du disque de Bacitracine sera interprétée comme étant susceptible (c'est-à-dire positif).

✚ Interprétation :

Susceptible = l'inhibition de la croissance autour du disque de Bacitracine.

Résistant = pas d'inhibition de la croissance.

Les micro-organismes *STREPTOCOCCUS* du groupe A, sont inhibés par la Bacitracine.

Les autres micro-organismes *STREPTOCOCCUS* Bêta- hémolytique ne le sont pas. [18]

Aspect du test négatif



Aspect du test positif



Figure 8 : Test à la Bacitracine (Disque A)



3.6.5. Test à l'Optochine (Disque P)

✚ Principe :

Le test à l'Optochine est une procédure simple utilisée pour l'identification de *STREPTOCOCCUS pneumoniae*. Le disque d'Optochine (P) contient l'Optochine qui inhibe la croissance de *STREPTOCOCCUS pneumoniae*. Avant l'exécution du test, il convient de confirmer la ressemblance du micro-organisme à *STREPTOCOCCUS pneumoniae*, c'est-à-dire diplocoques Gram positif qui apparaissent allongés et attachés à leurs bouts. Les colonies sont Alpha- hémolytiques, et peuvent apparaître aussi bien sèches que muqueuses.

✚ Procédure :

- confirmer l'identification de la coloration de Gram du micro-organisme.
- ensemercer le micro-organisme sur une gélose au sang.
- dans l'espace où la croissance est la plus dense (c'est-à-dire, la première partie de la boîte qui est inoculé), placer un disque d'Optochine.
- incuber la boîte dans l'incubateur à CO₂.
- le lendemain de l'incubation, examiner la gélose au sang pour l'inhibition de croissance bactérienne autour du disque d'Optochine. Mesurer la zone d'inhibition.

✚ Interprétation :

Réaction positive = inhibition de croissance autour du disque d'Optochine. La zone d'inhibition est supérieure ou égale à 15 mm.

Réaction négative = zone d'inhibition autour du disque d'Optochine de moins de 15 mm (c'est-à-dire, entre 6 et 15 mm de diamètre).

Un résultat positif est indicatif de *STREPTOCOCCUS pneumoniae*.

✚ Contrôle de Qualité :

- incuber le test dans l'incubateur à CO₂ pour s'assurer d'une bonne croissance de l'organisme.
- si la réaction est négative, réaliser l'antibiogramme avec Oxacilline et Céftriaxone pour distinguer *STREPTOCOCCUS spp* (sensible à l'Oxacilline et au Céftriaxone) de *ENTEROCOCCUS spp* (résistant à l'Oxacilline et au Céftriaxone).^[18]

Aspect du test négatif



Aspect du test positif



Figure 9 : Test à l'Optochine (Disque P)



3.6.6. Système d'identification API 20 E

Principe :

Le système d'identification API 20 E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif qui poussent facilement. Le système consiste en une galerie de 20 microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne, incubés pendant la nuit dans un incubateur en aérobie, et ensuite interprétés.

Procédure :

- préparation de la galerie
 - a. placer le support plastique API sur la table et ajouter assez d'eau pour couvrir à peine le bas du support.
 - b. retirer la galerie 20 E de son paquet et le placer dans le support.
- préparation de l'inoculum
 - a. ouvrir une ampoule pour préparation de la suspension
 - tenir l'ampoule dans une main avec le plastique blanc faisant face.
 - placer le pouce sur la capsule blanche et la pousser vers le bas aussi loin que possible.
 - placer le pouce sur la capsule et pousser ceci jusqu'à ce que l'ampoule à l'intérieur de la capsule soit cassée.
 - retirer soigneusement la capsule et le bout de l'ampoule.
 - b. en utilisant une anse prendre une seule colonie de la gélose au sang (pas sur la gélose de Mac Conkey) et faire une suspension de la colonie dans la solution pour la préparation de la suspension. Aucun grumeau des micro-organismes ne devrait être présent dans la suspension.
 - c. ajuster l'inoculum à 0,5 Mc Farland standard.
 - d. en utilisant une pipette à sérum stérile, inoculer la galerie API 20 E
 - les microtubes se composent d'un tube (partie au dessous du plastique clair) et la cupule (partie au dessus du microtube qui est ouverte et exposée).
 - pour le CIT (microtube numéro 11), le VP (microtube numéro 10) et le GEL (microtube numéro 11), remplir seulement le tube. Ne pas remplir la cupule.
 - ajouter l'huile minérale dans les cupules des cinq microtubes suivants : ADH (microtube numéro 2), LDC (microtube numéro 3), ODC (microtube numéro 4), H₂S (microtube numéro 6) et UREE (microtube numéro 7).



- placer le couvercle sur support et incuber la galerie pendant 18 à 24 heures dans l'incubateur en aérobiose. Ne pas placer la galerie l'incubateur à CO₂ (en anaérobiose).
- lecture de la galerie
 - a. reporter le résultats de l'oxydase qui a été fait sur les colonies de la gélose au sang enregistrer ce résultat sur la feuille de résultat de l'API 20 E.
 - b. enregistrer tous les résultats excepté ceux de TDA (microtube numéro 10).
 - c. lorsque GLU (microtube numéro 12) et au moins 3 autres cupules sont positives, ajouter les réactifs suivants :
 - une goutte de la solution de chlorure ferrique au microtube TDA. Une coloration brun- foncée est un résultat positif. Enregistrer-le sur la feuille de résultat.
 - une goutte du réactif de Kovacs au microtube IND. Attendre 2 minutes. Une teinte rouge en cercle est une réaction positive. Enregistrer-le sur la feuille de résultat.
 - une goutte d'hydroxyde de potassium (VP1) et une goutte du réactif VP2 (ou alpha- naphthol) au microtube de VP. Attendre 10 minutes. Une couleur rose est une réaction positive. Enregistrer-le sur la feuille de résultat.
 - deux gouttes d'acide sulfanilique et deux gouttes du réactif Dimethyl-1-Naphthylamine au microtube GLU. Attendre 3 minutes. Une couleur rouge est une réaction positive. Enregistrer-le sur la feuille de résultat (NO₂).
 - si le tube est négatif (jaune) ajouter une pincée de la poudre de zinc. Attendre 5 minutes. Si le tube reste jaune, le test de N₂ est positif. Enregistrer-le sur la feuille de résultat (N₂). Si cette réaction tourne au rouge, elle est négative.
 - d. quand le microtube GLU est négatif et le nombre de tests positifs est moins de 3, Ne pas lire le test. Dans ce cas, la galerie API doit être incubée au moins 24 heures de plus. Si après ce temps, le microtube GLU reste encore négatif et le nombre de tests positifs reste encore inférieur à 3, alors le micro-organisme peut être notifié comme étant un bacille Gram négatif à Oxydase positive ou négative et l'échantillon doit être envoyé à l'université de Maryland pour identification. L'antibiogramme doit toujours être fait.
- calculer le profil numérique.
 - a. sur la feuille de résultat, les tests sont regroupés par groupe de 3. Des résultats positifs pour le premier microtube ont une valeur de 1 ; une valeur de 2 pour le deuxième microtube ; et une valeur de 4 pour le troisième microtube. Un résultat négatif a une valeur de 0.

- b. les valeurs pour chaque groupe de trois réactions sont additionnées ensemble et peuvent être de 0 à 7.
- c. ceci est fait pour chacun des 7 groupes de trois réactions. Ceci forme un nombre à 7 chiffres.
- d. l'identification du micro-organisme est alors effectuée par la recherche des 7 chiffres dans le catalogue de référence de l'API 20 E. Les 7 chiffres doivent correspondre exactement. Toute identification avec Acceptable, Bonne, Très Bonne ou Excellente peut être enregistrée. Des tests supplémentaires sont exigés si l'identification est faiblement discriminante ou a une faible probabilité.
- e. dans le cas où les 7 chiffres ne correspondent pas exactement, vérifier que la colonie est pure. Lorsque ceci est exact, reprendre la procédure d'identification de la galerie API comme résumé ci-dessus au début. Si malgré cela les 7 chiffres ne correspondent toujours pas exactement à un nombre du catalogue d'identification API, téléphoner au représentant API. Quand vous êtes incapable de joindre cette personne, le micro-organisme peut être notifié comme étant un bacille Gram négatif à Oxydase positive ou négative. Il faut le conserver et envoyer un échantillon à l'Université de Maryland pour identification ^[18].



Figure 10 : Le système d'identification de la galerie API 20 E
(Cas de *ESCHERICHIA coli*)



3.6.7. Facteurs X et V de Croissance des *HAEMOPHILUS*

✚ Principe :

Un test simple pour l'identification de l'espèce commune des *HAEMOPHILUS* est de déterminer leurs exigences pour les facteurs X (Hemine) et V (NAD).

✚ Procédure :

- pour de petits coccobacilles Gram négatifs ou d'autres micro-organismes suspectés d'être des *HAEMOPHILUS*, il faut ensemencer ces micro-organismes sur une gélose trypticase de soja (TSA) sans sang.
 - si le micro-organisme pousse sur la gélose de sang de cheval mais pas sur la gélose Mac Conkey, ensemencer une colonie isolée vers le bas de la gélose et puis ensemencer toute la surface de la gélose TSA.
- placer immédiatement des disques X, V, et XV sur la gélose. Les disques seront bien séparés.
- incuber la boîte de gélose dans l'incubateur à CO₂ pendant une nuit.
- enregistrer la croissance ou l'absence de la croissance autour de chaque disque.

✚ Interprétation :

- croissance autour du disque XV mais pas autour du disque X ou V et s'il n'y a pas d'hémolyse sur la gélose au sang = *HAEMOPHILUS influenzae*.

Ensuite procéder aux tests d'agglutination pour déterminer s'il s'agit de *HAEMOPHILUS influenzae* type b

- toute autre modèle de croissance = *HAEMOPHILUS species*.

✚ Contrôle de Qualité :

- la croissance autour du disque XV peut être difficile à voir, donc examiner les boîtes rigoureusement.
- *HAEMOPHILUS* doit être incubé dans une jarre à bougie afin d'avoir un résultat fiable ^[18].

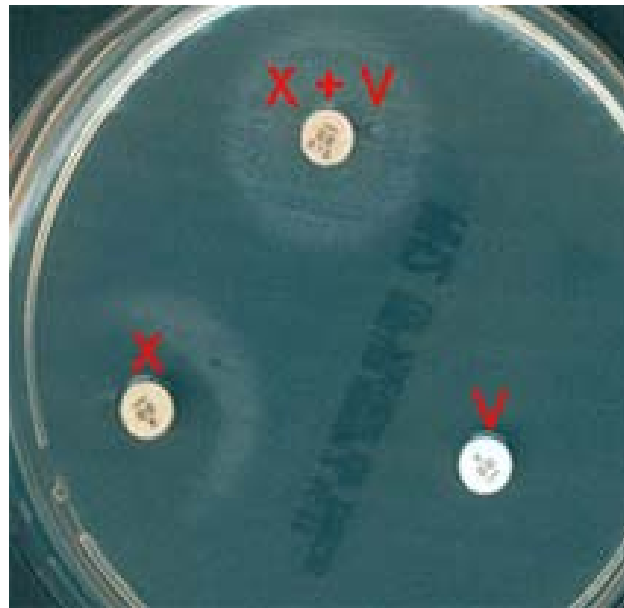


Figure 11 : Les facteurs de croissances des *HAEMOPHILUS*



3.7. CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUES

Test de Sensibilité des antibiotiques : Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon KIRBY- BAUER

Ce procédé définit l'utilisation de la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques in vitro selon KIRBY- BAUER. Pour tester la sensibilité, d'importants isolats en clinique. Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans la sélection de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

✚ Principe :

La méthode de diffusion des disques selon KIRBY- BAUER est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme. En standardisant les conditions du test (exemple : préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial, atmosphère et durée d'incubation) et avec une concentration du micro- organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique (exemple : plus la zone est grande, plus l'organisme est sensible).

Le test est exécuté exactement comme décrit sinon les résultats ne seront pas précis.

Matériels et réactifs utilisés :

Gélose de Müller- Hinton additionnée de 5% de sang de cheval (MHA- B)

Milieu de culture pour *HAEMOPHILUS* (HTM)

Solution saline stérile à 0,85 ‰

Standard 0,5 de Mc Farland

Disques antibiotiques pour test de sensibilité

Ecouvillons en coton stériles

Pipettes à sérum

Pinces à disques et/ ou applicateur de disque

✚ Conditions de stockage nécessaires :

– milieux de culture (MHA- B et HTM) : A conserver au réfrigérateur, ils sont réchauffés à la température de la salle avant leur utilisation. Les boîtes non-



stockées dans des sacs en plastique se déshydrateront et ne pourront pas être utilisées convenablement ;

- solution saline stérile : A conserver au réfrigérateur ;
- standard 0.5 de Mc Farland : A conserver au noir dans un récipient. Ne pas utiliser de tube rayé. Le diamètre du tube doit être le même que celui des tubes de solution saline utilisés pour la préparation des tests d'inoculum ;
- disques d'antibiotiques : Congeler les disques à -20°C ou à une température plus basse pour de longue conservation ;
- dès qu'une boîte est ouverte pour usage, elle peut être conservée au réfrigérateur dans une capsule bleue de 50 ml ensemble avec le dessiccateur.

Procédure du test :

– les boîtes de gélose doivent être réchauffées à la température de la salle avant qu'elles ne soient inoculées. Aucun excès d'humidité ne doit se trouver sur la surface de la gélose. La surface peut être humide mais de gouttelette d'humidité ne devraient pas être présentes au moment d'inoculer la gélose avec le micro-organisme ;

– la gélose HTM (gélose spéciale) est utilisée pour les tests *HAEMOPHILUS*. La gélose MHA-B (Müller Hinton au sang) est utilisée pour tous les autres tests ;

– enlever du réfrigérateur les disques pour le test de sensibilité afin de leur permettre de se réchauffer à la température de la salle. Au paravent ils auront été enlevés du récipient de conservation. Il ne faut pas exposer les disques froids à l'air de la salle parce que la condensation de l'humidité sur les disques froids conduirait à une détérioration rapide des antibiotiques. Vérifier les dates d'expiration sur les boîtes d'antibiotiques.

Ne pas utiliser de disques périmés ;

– sélectionner au moins 4 à 5 colonies bien isolées de même morphologie sur la gélose au sang. Toucher le sommet de chaque colonie avec une anse et nous les transférons dans un tube de solution saline. Ajuster l'inoculum de la solution saline à une turbidité égale à un standard de 0.5 de l'échelle de Mac Farland en utilisant le turbidimètre. Cette étape est très importante. La boîte de gélose est immédiatement inoculée avec l'inoculum ajusté ;

– plonger un écouvillon stérile dans la suspension ajustée. Il est tourné plusieurs fois sur la paroi intérieure du tube au- dessous du niveau du liquide pour enlever l'excès de l'inoculum. Inoculer la surface entière de la boîte de gélose en faisant tourner la boîte d'approximativement d'un angle de 60° et ensemençer de nouveau. Faire tourner la boîte et l'ensemencement est répété jusqu'à trois fois pour s'assurer d'une distribution régulière de l'inoculum. A l'étape finale, le bord de la gélose est tamponné ;

– inoculer une boîte pour *HAEMOPHILUS influenzae* ; pour *STREPTOCOCCUS pneumoniae*, *STAPHYLOCOCCUS aureus* ; deux boîtes de gélose sont inoculées pour les autres bacilles Gram négatifs ;



– laisser l'excès d'humidité s'absorber par la gélose pendant 5 à 10 minutes avant d'appliquer les disques d'antibiotiques. Placer les disques d'antibiotique sur la boîte en utilisant des pinces stériles. Le disque est pressé sur la surface de la gélose avec des pinces stériles pour s'assurer du contact complet avec la surface de la gélose. Ne plus enlever le disque une fois qu'il est arrivé au contact avec la surface de la gélose parce que l'antibiotique diffuse dans la gélose presque immédiatement.

Utiliser souvent des applicateurs de disques d'antibiotiques ;

– les disques d'antibiotiques suivants seront testés:

a. pour *STREPTOCOCCUS pneumoniae*: Oxacilline 1 µg (pour le test de Pénicilline 10 UI), Céftriaxone 30 µg, Erythromycine 15 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

b. pour *STAPHYLOCOCCUS aureus*: Pénicilline 10 UI, Oxacilline 1 µg, Céftriaxone 30µg ;

c. pour *HAEMOPHILUS influenzae*: Ampicilline 10 µg, Céftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

d. pour les autres bacilles Gram négatif

Boîte de gélose N°1- Ampicilline 10 µg, Céftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30 µg.

Boîte de gélose N°2- Gentamicine 15 µg, Cotrimoxazole 25 µg, Ciprofloxacine 5 µg.

– laisser les boîtes pendant 15 minutes après que les disques aient été déposés avant l'incubation proprement dite.

Les espèces *STREPTOCOCCUS* et *HAEMOPHILUS* sont placées dans l'incubateur à CO₂.

Tous les autres micro- organismes seront placés dans un incubateur en aérobiose.

Interprétation :

– tous les tests de sensibilité sont lus après 20 à 24 heures d'incubation. Si les examens sont lus plutôt ou après 24 heures, les résultats pourraient ne pas être précis ;

– mesurer les diamètres de la zone d'inhibition complète du disque, au millimètre près, en utilisant une règle posée sur la face postérieure de la boîte. Les résultats d'Oxacilline de *STAPHYLOCOCCUS* sont interprétés en tenant la boîte face à la lumière afin que toute croissance puisse être mise en évidence. Toute croissance discernable dans la zone d'inhibition est indicatrice de la résistance à la Vancomycine ou à l'Oxacilline. Fréquemment ces colonies seront très petites ; alors il faudrait examiner les boîtes avec soins.

– la limite est l'aire dans laquelle une croissance évidente est visible à l'œil nu, excepté la trace de la ligne de croissance à la lisière de la zone d'inhibition.

a. la croissance de larges colonies à l'intérieur d'une zone d'inhibition claire devrait indiquer un mélange de croissance.



Si tel est le cas, la sensibilité est mixée, reprendre le test. Si les colonies persistent dans la zone, il faut les considérer comme significatives ;

b. avec le Cotrimoxazole, les micro-organismes se développent à travers plusieurs générations avant d'être inhibés. Nous ne tiendrons pas compte de la faible croissance, nous devons lire seulement les limites de la croissance en abondance ;

c. se référer à la « carte de référence » pour l'interprétation des tests ;

d. les tests du disque de Pénicilline pour *STREPTOCOCCUS pneumoniae* ne sont pas exacts. C'est la raison pour laquelle le disque d'Oxacilline 1 µg est utilisé. Ne pas reporter les résultats comme Oxacilline mais plutôt les reporter comme Pénicilline.

✚ Compte-rendu :

– reporter les résultats dès que l'identification du micro- organisme est complète ;
– si le profil de sensibilité est atypique pour le micro- organisme identifié, l'identification et le test de sensibilité seront repris. Si les résultats restent atypiques, ils seront discutés avec le superviseur du laboratoire ou le directeur avant de les reporter ;

– quelques résultats avec les tests des disques de diffusion seront irréalisables. Les micro-organismes fastidieux ou lents en croissance ne seront pas testés par la méthode. En plus, des combinaisons de micro- organismes et d'antibiotiques ne peuvent pas être testés de façon fiable avec la méthode de diffusion des disques. Les guides suivants seront utilisés pour ces micro- organismes:

a. reporter comme résistants tous les tests de *SALMONELLA* et *SHIGELLA* avec des Aminoglycosides et les Céphalosporines de première et seconde générations ;

b. si le *STAPHYLOCOCCUS* est résistant à l'Oxacilline, reporter Pénicilline et Céftriaxone comme résistants sans tenir compte de ce que le test du disque indique. ^{[1] [23]}



Figure 12 : Exemple d'Antibiogramme (cas Résistant [R])



Figure 13 : Exemple d'Antibiogramme (cas intermédiaire [I])



Figure 14 : Exemple d'Antibiogramme (cas sensible [S])

**Tableau I : ANTIBIOGRAMME DES SOUCHES ISOLEES EN CLINIQUE**

Antibiotiques- Charges	S	I	R	Obs
<i>STREPTOCOCCUS pneumoniae</i>				
Pénicilline G (Test Oxacilline 1 µg)	>/=20	–	–	
Chloramphénicol 30 µg	>/=21	–	</=20	
Erythromycine 15 µg	>/=21	20 – 16	</=15	
Autres <i>STREPTOCOCCUS</i>				
Pénicilline G 6 µg (10UI) pour Ampicilline 10 µg	>/=24	–	–	
Ceftriazone 30 µg (pour <i>STREPTOCOCCUS viridans</i>)	>/=21	–	–	
Chloramphénicol 30 µg	>/=21	20 – 18	</=17	
Erythromycine 15 µg	>/=21	20 – 16	</=15	
<i>STAPHYLOCOCCUS aureus</i>				
Oxacilline 1 µg	>/=13	12 – 11	</=10	
Pénicilline G 6 µg (10UI)	>/=29	–	</=28	
Ceftriazone 30 µg	>/=21	20 – 14	</=13	
<i>HAEMOPHILUS influenzae type b</i>				
Ampicilline 10 µg	>/=22	21 – 19	</=18	
Ceftriazone 30 µg	>/=26	–	–	
Chloramphénicol 30 µg	>/=29	28 – 26	</=25	
<i>ESCHERICHIA coli</i> (et autres <i>ENTEROBACTERIACEAE</i>)				
Ampicilline 10 µg	>/=17	16 – 14	</=13	
Ceftriazone 30 µg	>/=21	20 – 14	</=13	
Chloramphénicol 30 µg	>/=18	17 – 13	</=12	
Gentamycine 10 µg	>/=15	14 – 13	</=12	
Cotrimoxazole 25 µg	>/=32	31 – 25	</=24	
Ciprofloxacine 5 µg	>/=21	20 – 16	</=15	



3.8. EXEMPLES DE MODES OPERATOIRES NORMALISES (MON) OU STANDARD OPERATING PROCEDURE (SOP)

3.8.1. Cas du microscope

HOPITAL GABRIEL TOURE

Tableau II : Titre : FONCTIONNEMENT ET UTILISATION DU MICROSCOPE OLYMPUS CX31 - Version N° 1

Rédigé le:	26/04/2006	Par : Pr F. B	FB	Visa :
Vérifié le:		Par : Dr S. D	SD	Visa :
Approuvé le:		Par : S. A. S	SS	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

Exemplaires : - Classeur des Modes Opératoires Normalisés

Documents Qualité liés : - Techniques microscopiques usuelles

I – Buts

Permettre une bonne utilisation du microscope

II - Domaines et personnels concernés

Bactériologie ; Parasitologie.

Chaque membre du centre est concerné.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

‘‘Techniques de laboratoire’’ les agrégés du Pharo- Marseille.

V - Contenu



FONCTIONNEMENT ET UTILISATION DU MICROSCOPE OLYMPUS CX31

Avant tout, s'assurer de la propreté des lentilles et, éventuellement, du miroir.

Le réglage de l'éclairage :

Le réglage de l'éclairage doit tenir compte des objectifs utilisés et se fait en jouant sur 3 éléments : la source lumineuse, le condensateur et le diaphragme.

- le condensateur : Sa position est réglable en hauteur. Plus l'objectif utilisé est fort plus le condensateur doit être haut, sa lentille supérieure venant alors affleurer la lame porte – objet. Inversement, il est mis en position basse avec les objectifs de faible grossissement. Certains microscopes permettent d'escamoter le condensateur pour les très faibles grossissements.

- le diaphragme : Permet de limiter l'intensité lumineuse lorsqu'on emploie des objectifs faibles. Il accroît ainsi la réfringence des éléments recherchés.

Mise au point :

D'une manière générale, il convient de toujours commencer un examen microscopique en utilisant un objectif faible : plus le grossissement est faible, plus le diamètre du champ est grand.

La mise au point sera différente avec les objectifs à sec ou à immersion.

a. Examen avec objectifs à sec (X 10 ou X 40).

- placer la préparation sur la platine
- amener l'objectif, sous contrôle latéral de la vue, presque au contact de la préparation,
- effectuer la mise au point à l'aide de la vis macrométrique. La qualité de l'image obtenue sera ensuite améliorée à l'aide de la vis micrométrique.

Pour l'examen à l'état frais, utiliser des objectifs à sec, la préparation étant placée sur la platine parfaitement horizontale.

Le premier repérage de l'image se fait à l'aide de l'objectif X 10.

Afin d'obtenir un meilleur effet de contraste et de mieux visualiser les éléments recherchés (cellules, bactéries...), on limite l'intensité lumineuse en abaissant le condensateur et en fermant plus ou moins le diaphragme.



Pour passer à un grossissement supérieur, les objectifs étant « synchronisés », il suffit d'amener l'objectif nécessaire dans l'axe optique. On n'aura plus qu'à parfaire la mise au point à l'aide de la vis micrométrique

b. Examen avec objectif à immersion :

Il sera précédé d'un examen à sec (objectifs X 10) qui donnera une idée générale de la préparation, permettra de repérer d'éventuels éléments rares et volumineux et de centrer la recherche sur la zone la plus intéressante.

Ceci fait, on dépose sur la préparation une petite goutte d'huile à immersion. Puis, sous contrôle latéral de la vue, on abaisse l'objectif à immersion dans la goutte d'huile presque au contact de la lame. La mise au point se fait ensuite en s'aidant de la vis micrométrique.

En fin d'examen on fait tourner l'objectif de l'axe optique de façon à l'enlever de dessus la lame de microscopie que l'on enlèvera de la platine.

Ne jamais tirer une lame en vue de l'enlever, sur laquelle se trouve encore l'objectif à immersion.

ENTRETIEN

- nettoyer les lentilles des objectifs et des oculaires ainsi que le miroir avec un chiffon doux ou un papier spécial ; ne jamais utiliser de peau de chamois ou de compresses qui rayent le verre.

On peut démonter les lentilles des oculaires pour en essuyer les faces intérieures, mais on doit s'abstenir de ce geste pour les objectifs.

- immédiatement après utilisation d'un objectif à immersion, il convient d'enlever l'huile restée sur la lentille : ne jamais utiliser de compresse mais simplement la pulpe du doigt propre ou un papier optique fourni à cet effet.

Lorsque de l'huile à immersion a séché sur un objectif, le nettoyage se fait à l'aide d'un chiffon doux légèrement imbibé de xylol suivi d'un essuyage immédiat avec un linge sec.

- le microscope doit toujours être gardé à l'abri de la poussière : après son utilisation, il sera placé sous la housse protectrice en plastique.

- périodiquement, on doit procéder à un contrôle plus approfondi et à un nettoyage plus important.^[6]



3.8.2. Cas du Bactec

Tableau III : Titre : MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU BACTECTM 9050 – Version N°1

Rédigé le:	26/04/2006	Par : Pr F. B	FB	Visa :
Vérifié le:		Par : Dr S. D	SD	Visa :
Approuvé le:		Par : S. A. S	SS	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

Exemplaires : - Classeur Utilisation du BactecTM 9050

Documents Qualité liés : -

I – Buts

Décrire l'utilisation en routine du BactecTM 9050

II - Domaines et personnels concernés

Secteur de Bactériologie.

Les responsables techniques.

III - Abréviations/Définitions

IV – Références

Manuel d'utilisation BD BactecTM 9050

V - Contenu



MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU BACTEC™ 9050

3.8.2.1. Objet et domaine d'application

L'appareil BD Bactec™ 9050 est conçu pour la détection rapide des bactéries et champignons présents dans les hémocultures cliniques. Les échantillons sont prélevés sur le patient et injectés directement dans les flacons d'hémoculture BD Bactec™. Les flacons sont ensuite saisis dès que possible dans l'appareil pour garantir son efficacité.

Lorsque les cultures contiennent des germes, ces micro-organismes transforment par métabolisme les éléments nutritifs présents dans le milieu de culture, ce qui entraîne la libération de gaz carbonique dans le milieu. Un colorant incorporé dans le capteur réagit avec le CO₂. Cette réaction module la quantité de lumière absorbée par un composant fluorescent du capteur. Les photos-détecteurs de l'appareil mesurent le niveau de fluorescence qui correspond à la quantité de CO₂ libérée par les germes. La mesure est ensuite interprétée par le système en fonction de paramètres de positivité pré-programmés.

Au démarrage du système, l'appareil BD Bactec™ 9050 effectue des auto-tests de diagnostic et enregistre ses instructions de fonctionnement. L'appareil commence alors à faire des analyses automatisées. Une rangée de diodes électroluminescentes (LED) placées derrière les flacons s'allument, activant ainsi les capteurs de fluorescence des flacons. Ensuite les photos-détecteurs de l'appareil prennent des mesures. Le cycle d'analyse est de 10 minutes. Les cultures positives sont immédiatement signalées par un voyant lumineux sur l'avant de l'appareil, par une alarme sonore installée en option et par un affichage sur l'écran à cristaux liquides.

Lorsque les flacons positifs sont identifiés, le technicien de laboratoire les sort de l'appareil pour vérifier les résultats, pour isoler et identifier le germe.

Un appareil peut contenir 50 flacons BD Bactec™. La capacité réelle est de 5 jeux de flacons d'hémoculture par jour avec un protocole d'analyse de cinq jours. Les flacons sont placés sur 3 cercles concentriques désignés par A, B et C. Les flacons, sous incubation constante à 35°C, sont agités afin de permettre la détection d'un maximum de germes.

Les principales caractéristiques de l'appareil BD Bactec™ 9050 sont les suivantes :



- analyse automatisée, en continu, et ne nécessitant aucune surveillance des hémocultures, par une technologie non- invasive basée sur la fluorescence.
- intervention et manipulation minimale de l'utilisateur.
- Signalement immédiat des positifs par un voyant lumineux, un affichage sur l'écran à cristaux liquides et une alarme sonore.
- interface utilisateur simplifiée, avec des icônes d'aide à l'installation et aux opérations quotidiennes.
- incubation et agitation de toutes les cultures.
- milieux d'hémoculture BD BactecTM ayant fait leurs preuves.

3.8.2.2. Documents associés

- installation et Configuration de BD BactecTM 9050, MA-0102 – Ce document contient des informations importantes sur la préparation du laboratoire et sur l'installation de l'appareil BD BactecTM 9050.
- guide de Formation en 5 Minutes de l'Opérateur de BD BactecTM 9050, MA-0104 – Ce document donne des instructions pour les opérations quotidiennes sur l'appareil BD BactecTM 9050, sous forme de cours graduels et interactifs
- instructions pour le Prélèvement de Sang : Ce document contient des informations sur le prélèvement des échantillons qui seront traités avec un appareil BD BactecTM de la série « Fluorescence ».
- notices d'utilisation des milieux BD BactecTM – Ces documents contiennent des informations importantes sur l'utilisation, le stockage, l'ensemencement, les performances et les limites d'utilisation de chaque type de milieu BD BactecTM.

3.8.2.3. Responsabilités

L'utilisation de l'appareil est sous la responsabilité des techniciens habilités à travailler sur cet appareil.

3.8.2.4. Déroulement de l'activité

a. Identité de l'appareil

Nom : « BactecTM 9050 »

Fournisseur: « BECTON DICKINSON AND COMPANY »

N° de série : « Bactec 1 : NB 4328 » ; « Bactec 2 : NB 4324 » ;
« Bactec 3 : NB 5490 »

N° de document : MA-0103F

Nature de connexion : Pas de connexion



b. Principes généraux de l'appareil :

Il s'agit d'un incubateur analyseur de bactériologie avec lecture par fluorescence, travaillant sur flacons primaires avec lecture de code barre.

c. Principe de mise en route

Pour vérifier et/ou régler les paramètres de mise en place de l'appareil, vérifier tout d'abord que la porte de l'appareil est bien fermée. Une fois que la porte est fermée, un écran apparaît (Noter que l'imprimante et les icônes d'alerte du système n'apparaissent pas toujours)

Toute modification apportée aux paramètres de configuration est effective à partir de la modification. Ces modifications ne concernent pas les flacons en cours d'analyse. Noter également que toute modification apportée ne peut être réellement « annulée » : pour revenir sur la valeur précédente, l'appareil doit être réglé manuellement.

Pour saisir le mode de configuration, appuyer sur la touche correspondant à l'icône qui indique la configuration.

Le premier des neuf écrans de configuration (Temps de Protocole de l'Analyse) apparaît alors.

i. Temps de Protocole de l'Analyse (1/9)

Trois réglages sont possibles pour le Temps de Protocole de l'Analyse : milieu général, milieu Mycosis/IC-F et milieu Myco/F Lytique. Lorsqu'on arrive sur cet écran, le protocole d'analyse de milieu général (tous les types de milieu autres que Mycosis/IC-F et Myco/F Lytique) s'affiche en surbrillance. Le réglage par défaut est de 5 jours. Pour augmenter ou diminuer le nombre de jours pour un milieu général, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS. La durée peut aller de 4 à 7 jours.

Pour régler le temps de protocole de l'analyse du milieu Mycosis/IC-F, appuyer sur la touche « Passer au champ suivant » afin que ce champ s'affiche en surbrillance. Utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée. La durée peut aller de 5 à 42 jours. La valeur par défaut est de 14 jours.



Pour régler le temps de protocole de l'analyse du milieu Myco/F Lytique, appuyer sur la touche « Passer au champ suivant » afin que ce champ s'affiche en surbrillance. Utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée. La durée peut aller de 5 à 42 jours. La valeur par défaut est de 42 jours.

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à l'écran de configuration suivant ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

ii. Heure et Format de l'Heure (2/9)

Lorsque cet écran apparaît, les minutes sont en surbrillance. Pour régler les minutes, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée.

Pour régler les heures, appuyer sur la touche « Passer au champ suivant » pour afficher les heures en surbrillance. Utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée.

Pour régler le format de l'heure, appuyer sur la touche « format » (représentée ci-dessus). Le format de l'heure par défaut (avec deux-points pour séparation) apparaît. Continuer à appuyer sur la touche « Format » pour faire défiler les différents formats possibles jusqu'à ce que l'option souhaitée apparaisse. Choisir comme caractère de séparation un point (.), une virgule (,) ou un deux-points (:).

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à la configuration suivante ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

iii. Date et Format de la Date (3/9)

Lorsque cet écran apparaît, l'année (par défaut le champ de droite) est en surbrillance. Pour régler l'année, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée.

Pour régler le jour (par défaut le champ du milieu), appuyer sur la touche « Passer au champ suivant » pour afficher en surbrillance le champ du jour.



Utiliser la touche de la flèche verticale haute ou de la flèche verticale basse pour augmenter ou diminuer la valeur affichée.

Pour régler le mois (par défaut le champ de gauche), appuyer sur la touche « Passer au champ suivant » pour afficher le mois en surbrillance. Utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS pour augmenter ou diminuer la valeur indiquée.

Pour régler le format de la date, appuyer sur la touche « Format » (représentée ci-dessus). Le format de la date par défaut (MM/JJ/AA) apparaît. Continuer à appuyer sur la touche « Format » pour faire défiler les différents formats possibles jusqu'à ce que l'option souhaitée apparaisse. Choisir parmi les formats suivants :

Tableau IV : Date et format de la date

Barre oblique (/) pour séparation	MM/JJ/AA ou MM/JJ/AAAA	JJ/MM/AA ou JJ/MM/AAAA	AA/MM/JJ ou AAAA/MM/JJ
Tiret (-) pour séparation	MM-JJ-AA ou MM-JJ-AAAA	JJ-MM-AA ou JJ-MM-AAAA	AA-MM-JJ ou AAAA-MM-JJ
Point (.) pour séparation	MM.JJ.AA ou MM.JJ.AAAA	JJ.MM.AA ou JJ.MM.AAAA	AA.MM.JJ ou AAAA.MM.JJ

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à la configuration suivante ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

iv. Volume de l'Alarme sonore (4/9)

Sélectionner le volume de l'alarme sonore de l'appareil. L'alarme est réglée sur 5 par défaut, c'est-à-dire la valeur moyenne. Pour augmenter ou diminuer le volume, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS (l'alarme retentit chaque fois que vous modifiez le réglage du volume). Vous pouvez choisir entre 0 (alarme sonore éteinte) et 10 (volume maximal).

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à la configuration suivante ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

v. Numéro de l'Appareil (5/9)

Sélectionner le numéro d'identification de l'appareil. Le numéro d'identification par défaut est 1. Pour augmenter ou diminuer le numéro de



l'appareil, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS. Sélectionner un nombre entre 1 et 99. S'il n'y a qu'un seul appareil, laisser ce paramètre sur 1.

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à la configuration suivante ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

vi. Seuils Milieux / Saisie Flacon DVE (6/9)

Se reporter aux instructions de Saisie Flacon DVE de BD BactecTM 9050.

vii. Langue (7/9)

Sélectionner la langue dans laquelle vous voulez imprimer le rapport d'état du système. La langue par défaut est l'anglais. Pour faire défiler les différentes options, utiliser la touche de la FLECHE VERS LE HAUT ou de la FLECHE VERS LE BAS.

Vous pouvez choisir une langue parmi les suivantes :

Anglais ; Espagnol ; Français ; Allemand ; Italien ; Chinois ; Japonais ; Polonais.

Appuyer sur la touche « Configuration » pour passer à la configuration suivante ou appuyer sur la touche « Quitter » pour quitter le mode de configuration.

viii. Enregistrer les Données sur Disquette (8/9)

Dans certaines circonstances, c'est-à-dire en cas d'erreur ou de dysfonctionnement du système, BD vous conseil d'enregistrer les données du système sur disquette. Pour utiliser la fonction, insérer une disquette vierge formatée non protégée en écrivant dans le lecteur de disquettes puis appuyer sur la touche « Exécuter ».

ix. Mise à jour (9/9)

Des mises à jours du logiciel système pourront vous être fournies pour la sortie de nouvelles versions. Le nouveau logiciel devra être installé à la réception et enregistré sur la fiche fournie en Annexe C du présent manuel. Les nouvelles versions de logiciels seront fournies sur disquettes 3'' 1/2 portant l'étiquettes « Logiciel du système BD BactecTM 9050, Version y.yyz » (y.yy correspondant au numéro de version du logiciel et z à la révision). Le numéro de catalogue sera également imprimé sur l'étiquette.



Pour installer une mise à jour, insérer la disquette contenant le nouveau logiciel dans le lecteur de disquettes, puis appuyer sur la touche « Exécuter » pour initialiser la mise à jour. Le système est réinitialisé et commence immédiatement à mettre à jour le logiciel (à condition que la disquette soit formatée, ne soit pas protégée en écriture* et contienne la même version du logiciel ou une version ultérieure). Le nom des fichiers mis à jour apparaît sur l'écran à cristaux liquides, ainsi que la progression de la mise à jour. Lorsque la mise à jour est terminée, l'interface utilisateur est téléchargée et le système peut fonctionner normalement.

*Noter qu'il n'est pas nécessaire de désactiver la protection en écriture avec la version I.I ou une version ultérieure du logiciel.

d. Modalité de préparation des échantillons

▪ Critères d'acceptabilité des échantillons

Les échantillons doivent être prélevés de façon aseptique et ensemencés dans les flacons. Se reporter à la notice d'utilisation jointe aux flacons qui donne des conseils spécifiques concernant le prélèvement des échantillons. Les flacons doivent être étiquetés et envoyés immédiatement au laboratoire.

Il faut observer les précautions réglementaires pour la manipulation de tout objet contaminé par le sang ou d'autres liquides physiologiques.

▪ Nature du tube ou du récipient recommandé :

Pour toutes les analyses réalisées sur cet automate, utiliser des flacons BD BactecTM 9050 avec lecture de code barre.

▪ Recommandations particulières :

Nous conseillons de tester les performances de tous les lots de milieux reçus en effectuant un test de contrôle positif et négatif. Le flacon positif doit être ensemencé avec 1,0 ml d'un Standard Mc Farland 0,5 de *ESCHERICHIA coli* ou de *STAPHYLOCOCCUS aureus*. Ce flacon, ainsi qu'un flacon non ensemencé, doivent être placés dans l'appareil et analysés. Le flacon ensemencé doit être détecté comme positif par l'appareil dans les 72 heures. Le flacon de contrôle négatif doit rester négatif. Cela vous permet de vérifier que les milieux n'ont pas été stockés ou transportés dans de mauvaises conditions avant réception au laboratoire. Si l'un de ces flacons ne donne pas les résultats escomptés, contacter BD avant d'utiliser ce milieu.



▪ Préparation des échantillons

Il faut préparer au moins un flacon aérobie et un flacon anaérobie. Pour préparer le flacon, enlever la capsule en plastique et nettoyer le bouchon en caoutchouc avec de l'alcool isopropylique à 70° ou l'alcool éthylique à 70°. Utiliser une nouvelle compresse pour chaque flacon. Ensemencer le flacon avec le volume approprié d'échantillon.

e. Modalités de contrôles de qualité internes

▪ Vérification de la température :

Un thermomètre et un flacon spécial sont fournis pour vérifier la température d'incubation de l'appareil (Contrôle de Qualité). Il est conseillé de contrôler l'exactitude du thermomètre par rapport à un thermomètre de laboratoire étalonné pour s'assurer de la validité de la vérification de la température.

Les éléments du circuit de contrôle de la température doivent permettre de maintenir la température de l'armoire à $35\text{ °C} \pm 1,5\text{ °C}$. Si le résultat de la lecture manuelle donne une valeur se trouvant à $1,5\text{ °C}$ près de la température de consigne (35 °C), l'incubateur fonctionne correctement.

NB : Le flacon de la température est installé sur un support à l'intérieur de la porte de l'appareil.

▪ Vérification du filtre à air :

Les filtres à air situés sur chaque côté de l'appareil doivent être changés ou nettoyés au moins une fois par mois. Si l'environnement de l'appareil est particulièrement poussiéreux, vérifier le filtre plus fréquemment. Ces filtres doivent rester propres et non obstrués ; si la circulation d'air est limitée, les flacons risquent d'atteindre des températures excessives, qui peuvent affecter la détection des organismes et provoquer des dysfonctionnements ou des pannes de matériel. Les filtres sont lavés à l'eau savonneuse pour être nettoyés et réutilisés.

f. Réalisation des analyses

Pour insérer ou réintroduire un flacon :

1. ouvrir la porte du Bactec.
2. appuyer sur la touche « **Insertion flacon** »
3. faire lire le code à barres du flacon devant le faisceau lumineux.
4. insérer le flacon dans l'alvéole indiquée sur l'écran.

Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon si d'autres flacons sont à introduire.

5. fermer la porte.



Pour retirer un flacon positif :

1. ouvrir la porte.
 2. appuyer sur la touche « **Retrait des positifs** »
 3. retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
 4. faire lire code à barres du flacon.
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon positif.
5. fermer la porte.

Pour retirer un flacon négatif :

1. ouvrir la porte.
 2. appuyer sur la touche « **Retrait des négatifs** »
 3. retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
 4. lire le code à barres du flacon.
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon négatif.
5. fermer la porte.

Pour identifier un flacon anonyme (les tests sont en cours, mais le flacon n'a pas été saisi).

1. ouvrir la porte.
 2. appuyer sur la touche « **Identifier l'anonyme** »
 3. retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
- Reprendre les étapes 4 et 5 pour tout nouveau flacon anonyme.
6. fermer la porte.

Pour résoudre une « Erreur de Station » :

1. ouvrir la porte.
 2. appuyer sur la touche « **Résoudre les erreurs** »
 3. si un flacon est présent dans cette alvéole, lire son code à barres.
 4. si aucun flacon n'est présent dans cette alvéole, appuyer sur la touche → (« **Annuler alvéole** »).
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque station en erreur.
5. fermer la porte.

g. Principes de validation analytique

Pendant les diverses opérations sur l'appareil BD Bactec™ 9050 et au cours de l'analyse des flacons, des incidents et des erreurs peuvent survenir sur le système. Les différents types d'incidents et d'erreurs sont indiqués par des codes d'erreur « E », des signaux sonores, l'apparition de l'icône d'incident sur le système ou du voyant clignotant d'incident sur le système (ou une combinaison de ces signaux). Généralement, plus l'incident est grave, plus les moyens utilisés pour prévenir l'opérateur sont nombreux.



NB : Lorsque le système signale des incidents ou des erreurs, prendre immédiatement les mesures nécessaires.

Les incidents sur le système, qui comprennent tous les codes d'erreur de type « E », sauf ceux compris entre 30 et 40, sont indiqués dans le journal de bord des incidents sur le système. Ces erreurs provoquent l'apparition de l'icône d'incident sur le système sur l'écran « Etat principal » et peuvent être examinées en appuyant sur la touche « Incident sur le système ». Les erreurs doivent être passées en revue pour corriger la situation d'incident sur le système.

Les erreurs d'activité (telles que la lecture d'un code barre imprévu) provoquent l'apparition de l'icône d'erreur d'activité sur l'écran « Activité » (par exemple le retrait des positifs, le retrait des négatifs, etc.). Elles ne mettent pas le système en situation d'incident et peuvent généralement être supprimées en recommençant l'opération (par exemple la lecture du bon code barres).

Des erreurs de station (type E12) peuvent survenir pour un certain nombre de raisons. Ces erreurs sont enregistrées dans le journal de bord des incidents sur le système et sont également signalées par l'apparition de l'icône de correction des erreurs sur l'écran « Activité principale ». La procédure générale permettant de résoudre les erreurs de station est indiquée suivant la figure 14 (Cf. Manuel d'utilisation BD BactecTM 9050).

h. Arrêt de fin de journée

L'interrupteur à bascule Marche/Arrêt se trouve en bas à droite, à l'arrière de l'appareil. Lorsque cet interrupteur est en position 0 (Arrêt), l'appareil est hors tension. Lorsqu'il est en position 1 (Marche), l'appareil est sous tension. Pour que l'étuve d'incubation, l'agitateur et les modules d'analyse de cultures fonctionnent, l'appareil doit être sous tension 24 heures/24. Pour un fonctionnement normal, l'interrupteur de mise sous tension doit constamment rester en position Marche (sauf lors de certaines opérations d'entretien).

i. Modalités de maintenance

▪ Maintenance interne

Chaque jour, les vérifications suivantes doivent être effectuées :

- vérifier la température indiquée sur l'écran à cristaux liquides de l'appareil. Vérifier si la température est bien de $35^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$.
- vérifier également la température indiquée pour le flacon de contrôle de la température. Si la température indiquée n'est pas de $35^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, se reporter aux instructions « Détection des Pannes ».



.....
▪ **Maintenance externe**

Aucun contrat de maintenance préventive n'est conclu.

Cependant en cas de problème, le Manuel prévoit de contacter le numéro suivant : Tel : (410) 316 4000 / Fax : (410) 316 4826 USA.

▪ **Enregistrement des maintenances**

Les maintenances internes et externes sont enregistrées dans un registre gardé dans le bureau du Chef de Service.

j. Remplacement en cas de panne

En cas de panne ne pouvant être réparée dans un délai compatible avec la réalisation des analyses, les échantillons sont transférés sur l'un des trois autres appareils BactecTM 9050.

k. Elimination des déchets

Les déchets solides comme les flacons BactecTM 9050 sont éliminés par incinération.

l. Classement et archivage

Les documents sont classés au laboratoire. [2]



3.8.3. Cas du prélèvement

HOPITAL GABRIEL TOURE

Tableau V : Titre : MODE OPERATOIRE DU PRELEVEMENT DE SANG POUR CULTURE –Version : N° 1

Rédigé le:	26/04/2006	Par : Pr F. B	FB	Visa :
Vérifié le:		Par : Dr S. D	SD	Visa :
Approuvé le:		Par : S. A. S	SS	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

Exemplaires : - Classeur PRE- ANALYTIQUE

Documents Qualité liés :

- Consignes générales de manipulation des échantillons potentiellement infectieux.
- Instructions «choix des tubes»

I – Buts

Décrire le mode opératoire de la réalisation des prélèvements sanguins pour hémoculture

II - Domaines et personnels concernés

Secteur pré- analytique. Les médecins, les biologistes, les pharmaciens, les infirmiers et les techniciens de laboratoire.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

Normes et procédures sur la prévention des infections.

V - Contenu



MODE OPERATOIRE DU PRELEVEMENT DE SANG POUR CULTURE

3.8.3.1. Objectif

Fournir les instructions pour un prélèvement de sang sécurisé et approprié chez les enfants afin de détecter la présence de bactérie

3.8.3.2. Matériels et Equipements

- tampon de Bétadine ®
- seringues 3 à 10 ml
- aiguilles stériles 20 à 24
- garrot
- compresse stérile 2 x 2
- flacons pédiatriques BACTEC d'hémoculture
- tampons d'alcool
- gants
- pansements adhésifs
- étiquettes

3.8.3.3. Procédure

- ✓ expliquer la procédure au patient et/ou parent/accompagnant.
- ✓ étiqueter convenablement les flacons d'hémoculture, conformément au protocole.
- ✓ identifier un site veineux de prélèvement pour hémoculture.
- ✓ laver les mains et mettre des gants.
- ✓ enlever le capuchon collé au dessus du flacon d'hémoculture, désinfecter le bouchon en caoutchouc avec de l'alcool et permettre de sécher.
- ✓ palper le site de la ponction veineuse. Nettoyer d'abord avec un tampon d'alcool, puis nettoyer avec tampon de Bétadine ® de façon centrifuge à partir du point d'insertion de l'aiguille. Permettre la Bétadine ® de rester en contact avec la peau jusqu'à sécheresse (pas moins qu'une minute).
- ✓ appliquer le garrot de façon proximale pour engorger la veine.
- ✓ insérer l'aiguille stérile de dimension 20 à 24 dans la veine et prélever la quantité recommandée de sang dans une seringue stérile.
 - les dimensions de seringue recommandées en fonction de l'âge sont les suivantes : 3 cc pour les enfants âgés de moins de 12 mois ; 5 cc pour les enfant âgés de 12 à 47 mois et 10 cc pour les enfants âgés de plus de 47 mois. Les quantités de sang à prélever recommandées en fonction de l'âge



.....

sont les suivantes : pas moins d'un ml pour les enfants âgés de moins de 12 mois ; pas plus de 3 ml pour les enfants âgés de 12 à 47 mois et 5 ml pour les enfants âgés de plus de 47 mois.

- la quantité maximale de sang à mettre dans le flacon pédiatrique BACTEC est 5 ml. Si plus d'un ml mais moins que le volume de sang recommandé est tout ce qui peut être obtenu au cours d'une tentative unique de prélèvement de sang chez un enfant quel que soit son âge, d'autres tentatives de ponction veineuse ne seront pas entreprises. Sans tenir compte du volume obtenu, pas plus de 3 tentatives de ponction veineuse ne seront réalisées pour obtenir le volume de sang recommandé. Les 2ème et 3ème tentatives ne seront réalisées que seulement après désinfection anti-microbienne de la peau, comme ci-dessus décrite. Tout volume de sang obtenu, sans tenir compte de sa petite quantité, sera mis dans le flacon d'hémoculture.
- ✓ détacher le garrot, retirer doucement l'aiguille, appliquer une gaze de compresse 2 x 2 sur le point de piqûre avec une douce pression jusqu'à ce qu'il y est l'arrêt du saignement.
- ✓ enlever l'aiguille de la seringue et la jeter avec soins dans la poubelle à aiguille ; adapter une aiguille stérile 20 de transfert à la seringue. Insérer avec soins l'aiguille de transfert, maintenant adaptée à la seringue contenant du sang, dans le bouchon plastique du flacon pédiatrique BACTEC d'hémoculture et vider entièrement le contenu de la seringue dans ce flacon.
- ✓ retirer l'aiguille du flacon d'hémoculture et jeter avec soins aiguille et seringue dans la poubelle à seringue. Ne jamais re-capuchonner l'aiguille et ne jamais remplir la poubelle à seringue de plus de $\frac{3}{4}$ de son contenu habituel.
- ✓ intervertir doucement le flacon d'hémoculture 2 à 3 fois pour mélanger le sang avec le milieu de culture.
- ✓ noter l'heure et la date du prélèvement, la quantité prélevée, et le site de la ponction veineuse dans les supports appropriés.
- ✓ transporter le flacon au laboratoire de bactériologie clinique désigné par le Principal Investigateur ou par le protocole de l'étude pour traitement. ^[18]



3.8.4. Cas de la gestion des déchets

HOPITAL GABRIEL TOURE

Tableau VI : Titre : **PROCEDURE DE TRI ET D'ELIMINATION DES DECHETS - Version N° 1**

Rédigé le:	26/04/2006	Par : Pr F. B	FB	Visa :
Vérifié le:		Par : Dr S. D	SD	Visa :
Approuvé le:		Par : S. A. S	SS	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

Exemplaires : - Classeur Hygiène et sécurité

Documents Qualité liés : -

I – Buts

Rappeler les exigences réglementaires en matière d'élimination des déchets et décrire l'organisation dont s'est dotée le laboratoire pour répondre à ces exigences.

II - Domaines et personnels concernés

Tous les domaines d'activité du centre. Plus particulièrement le secteur "Entretien des locaux".

Chaque membre du personnel du centre (notamment les responsables techniques agents de surfaces et, les responsables prélèvements) agent d'entretien.

III - Abréviations/Définitions

IV - Références

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses.

V – Contenu



PROCEDURE DE TRI ET D'ELIMINATION DES DECHETS

3.8.4.1. Elimination des déchets

Les déchets, générés par l'activité de prélèvement et par l'exécution des analyses, doivent être séparés-en:

- déchets à risques;
- déchets professionnels assimilables à des ordures ménagères.

Les déchets à risque sont séparés en trois groupes:

- déchets potentiellement contaminés, déchets anatomiques, déchets piquants ou coupants;
- produits toxiques et chimiques ;
- produits radioactifs.

Pour chaque groupe, une filière d'élimination doit être mise en place avec des modalités de conditionnement, de stockage, et de traitement spécifiques.

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 conserver en conteneurs en vue de leur élimination par le circuit des ordures ménagères après accord de la collectivité locale.

3.8.4.2. Application du texte au laboratoire

Les déchets comportent:

- des déchets assimilés à des ordures ménagères (papier) enlevés et éliminés par la voie des ordures ménagères (déchetteries municipales).
- des déchets à risque constitués eux-mêmes :
- de déchets solides potentiellement contaminés, dont les piquants et les coupants, enlevés et traités au niveau de la structure.
- de déchets liquides présentant un risque toxique et biologique, traités et éliminés au niveau de la structure..

3.8.4.3. Processus de l'élimination des déchets

Organigramme

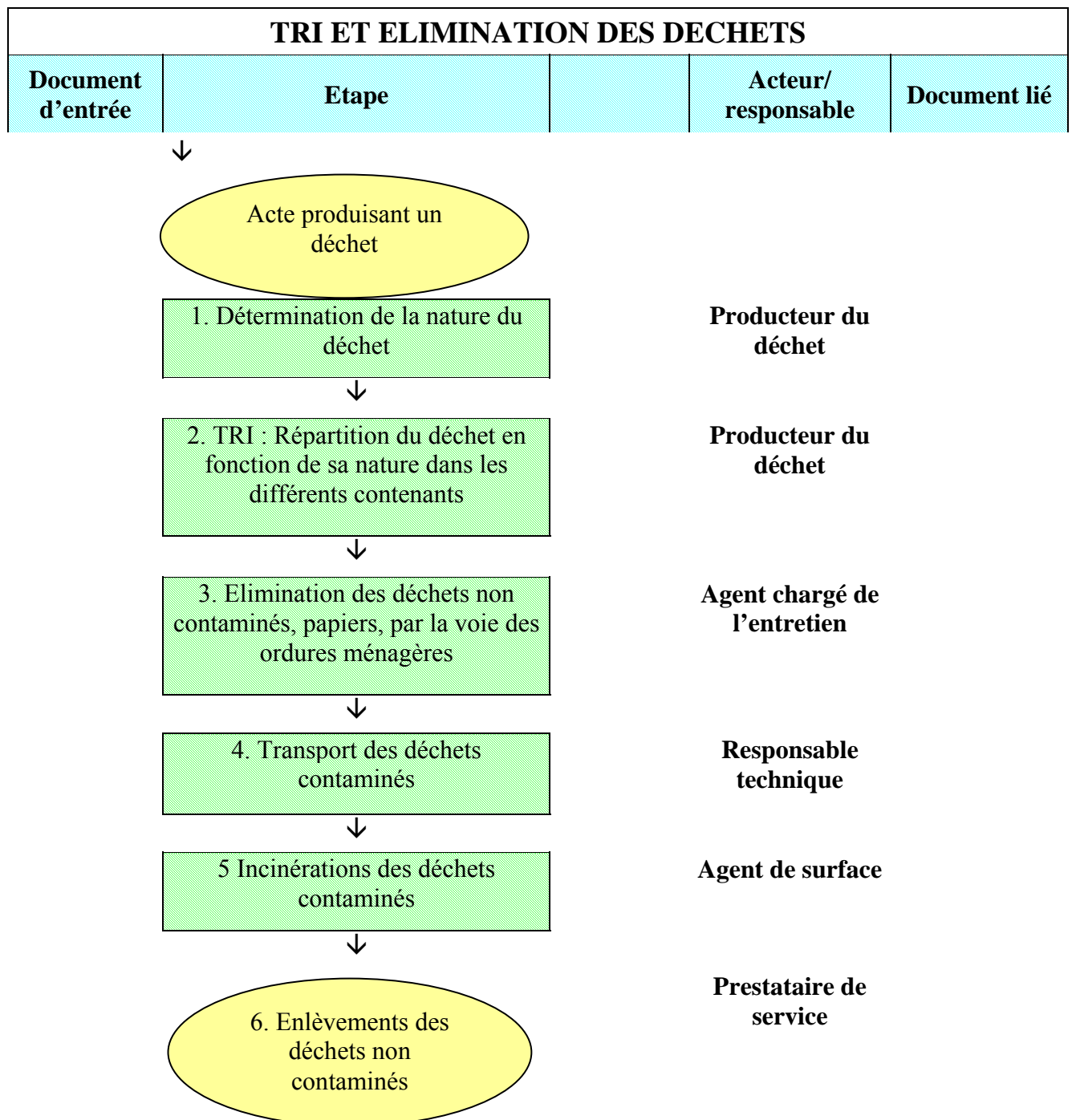


Figure 15 : Processus de l'élimination des déchets - Organigramme



Etapes

Personnel de bureau

Les déchets générés par l'activité administrative sont récoltés dans les corbeilles à papier puis vidés dans la poubelle prévue pour les déchets assimilables aux ordures ménagères par l'agent de surface tous les jours. Ceci concerne le bureau du responsable du labo et le secrétariat.

Personnel effectuant des prélèvements

Toute personne effectuant un prélèvement devra mettre directement :

- l'aiguille à prélèvement sans la recapuchonner dans un container spécial (boîte de sécurité) placé dans les salles de prélèvement.
- les déchets contaminés (spéculum, vaccino style, spatule...) dans la poubelle dédiée à cet usage.
- les déchets non contaminés dans la corbeille à papier.
- le matériel souillé réutilisable dans un cristalliseur contenant Stéranios® pur ou solution d'hypochlorite de sodium.

Responsables Techniques des différentes paillasses.

Font le tri des déchets en fonction de leur nature et du danger qu'ils représentent pour les hommes et pour l'environnement :

3.8.4.4. Mode opératoire de l'élimination des différentes sortes de déchets

Déchets solides

Les déchets contaminés

- les objets piquants ou coupants sont mis dans les boîtes de sécurité ou à défaut dans des bouteilles pouvant être refermées qui seront ensuite jetées dans la poubelle dédiée aux déchets contaminés.
- les anses jetables sont placées dans des bouteilles pouvant être refermées et qui seront ensuite jetées dans la poubelle dédiée aux déchets contaminés.
- les déchets plastiques, les écouvillons, les tubes primaires fermés, et papiers contaminés seront mis dans des poubelles dédiées aux déchets contaminés doublées de sac poubelle. Une fois pleins à moitié, les sacs seront fermés définitivement et incinérés.
- tous les sacs plastiques contenant les déchets contaminés sont placés dans une poubelle de stockage prévue à cet effet et seront ensuite acheminés vers l'incinérateur par l'agent de surface pour la destruction.

Les déchets non contaminés

- ces déchets assimilables à des déchets d'ordures ménagères devront être séparés des précédents.
- ils seront mis dans une corbeille à papier, enlevés par les agents de nettoyage et éliminés par la voie des déchetteries municipales.



Déchets liquides

Ces déchets sont décontaminés par l'eau de Javel puis sont éliminés à l'évier.

Elimination des déchets

- les agents de surface seront chargés d'acheminer tous les déchets non contaminés sur le lieu de stockage prévu à cet effet.
- ces déchets non contaminés seront stockés dans la grande poubelle en fer (dans la cours) avant leur enlèvement par le prestataire de service chargé des déchets non contaminés.
- chaque responsable de paillasse est chargé de conditionner et d'acheminer les déchets contaminés, dans une poubelle de stockage prévue à cet effet.
- cette poubelle est acheminée vers l'incinérateur par un agent de surface.
- les déchets liquides générés par les automates ou techniques manuelles (hématologie, biochimie, etc...) sont traités par les responsables de paillasse.

Décontamination liquide

Certains automates gèrent la décontamination des résidus d'analyse directement avant l'élimination par rejet dans la canalisation.

Pour les autres appareils les recommandations du fabricant sont respectées avant l'élimination des déchets dans l'évier.

Si le fournisseur ne préconise aucun protocole d'élimination, procéder comme suit :

- ajouter dans le bidon à déchet, des pastilles de soude (base) de manière à obtenir un pH basique >12 .
- mesurer le pH à l'aide des bandelettes, rajouter de la soude si nécessaire.
- ajouter deux pastilles de Javel pour 5 litres.
- laisser agir pendant 12 heures.
- éliminer le liquide dans l'évier.

Automate d'hématologie / Facs Count

- dans le bidon à déchet contenant 5 litres de déchets ajouter 1 litre d'eau de Javel à 12 °C
- laisser agir pendant une heure.
- éliminer le liquide dans l'évier.

Automate de biochimie

- diluer à moitié le bidon à déchet.
- jeter à l'évier.
- laisser couler l'eau pendant une minute.

Incinération des déchets contaminés

Cf. MO incinération des déchets contaminés. ^[9]



3.8.5. Cas de l'utilisation de l'eau de javel

HOPITAL GABRIEL TOURE

Tableau VII : Titre :MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DE LA JAVEL - Version N° 1

Rédigé le:	26/04/2006	Par : Pr F. B	FB	Visa :
Vérifié le:		Par : Dr S.D	SD	Visa :
Approuvé le:		Par : S. A. S	SS	Visa :
Modifié le:		Par :		Visa :
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

Exemplaires : - Classeur Hygiène et Sécurité

Documents Qualité liés : -

I – Buts

Décrire le mode de préparation et d'utilisation des différentes dilutions d'eau de Javel au laboratoire.

II - Domaines et personnels concernés

Tous les domaines d'activité du laboratoire et particulièrement la laverie ; Tous les membres du personnel et particulièrement les agents chargés de l'entretien.

III - Abréviations/Définitions

DCCNa : dichloroisocyanurate de sodium.

IV - Références

Techniques Elémentaires. ‘ Hygiène et Sécurité’

V - Contenu



MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DE LA JAVEL

3.8.5.1. Javel "de ménage" : 12 °Cl

Stockage dans la laverie sur les étagères à l'abri de la chaleur et des rayons solaires.

NB : le degré Chlorométrique déclaré par le fabricant sur le flacon est stable pendant trois mois à partir de la date de fabrication dans les conditions de stockage spécifiées.

UTILISATION :

- à utiliser telle quelle pour la désinfection des poubelles des automates d'Hématologie et de biochimie.
- préparation des dilutions suivantes

3.8.5.2. Javel à 6 °Cl "Creutzfeldt Jacob"

- diluer la javel à 12 °Cl au 1/2 dans l'eau du robinet
- stable 1 semaine : à préparer en cas de besoin.

UTILISATION :

- décontamination du matériel et paillasses en cas de suspicion de Maladie de Creutzfeldt Jacob.

3.8.5.3. Javel à 3 °Cl

- diluer la javel à 12 °Cl au 1/4
- dans une éprouvette de 2,5 litres: mélanger 1/4 de Javel de Ménage à 12 °Cl avec 3/4 d'eau du robinet (ajuster aux traits repères marqués sur l'éprouvette).
- stable 1 semaine.
- remplacement possible par les comprimé de DCCNa à 1g de Chlore actif : 10 comprimés/litre.

UTILISATION :

- désinfection des paillasses et des matériels
- pour détruire le virus de l'hépatite B (beaucoup plus résistant que le VIH).



3.8.5.4. Javel à 1,2° Cl

- détruit les bactéries et presque tous les virus dont le VIH.
- diluer la Javel à 12 °Cl au 1/10.
- dans une éprouvette de 2,5 litres: mélanger 1/10 de Javel de Ménage à 12 °Cl avec 9/10 d'eau du robinet (ajuster aux traits repères marqués sur l'éprouvette).
- stable une semaine.
- remplacement possible par les comprimés de DCCNa à 1g de Chlore actif : 4 comprimés /litre.

UTILISATION :

- désinfection des mains en cas de contact avec un liquide biologique
- pour détruire les bactéries et presque tous les virus dont le VIH.

NB : Tous les flacons doivent être fermés et étiquetés avec le titre en degrés Chlorométriques et la date de préparation inscrits clairement. ^[9]



3.9.SAISIE INFORMATIQUE DES RESULTATS

L'étude a été entreprise pour la surveillance des infections bactériennes invasives chez deux groupes d'enfants :

- les patients hospitalisés de HGT (cette étude a été conduite pendant 2 années et a inclus environ 2500 enfants par an)
- les patients non hospitalisés (patients vus en urgence à HGT). Ce groupe inclura environ 900 enfants par an.

Note : L'étude des patients hospitalisés de HGT a commencé en février 2002 et est en cours ; les données sont saisies dans le logiciel d'EpiInfo.

Mise en place d'un nouveau système informatique dénommé GDH (Global Digital Health) :

A partir du déploiement de ce système de GDHealth, les données sont désormais saisies en utilisant la solution de GDHealth. Le transfert des données entre les programmes est le but visé par ce projet.

3.9.1. Description du processus d'étude de HGT

3.9.1.1. La description générale

L'organigramme du processus se trouve sur la figure suivante :

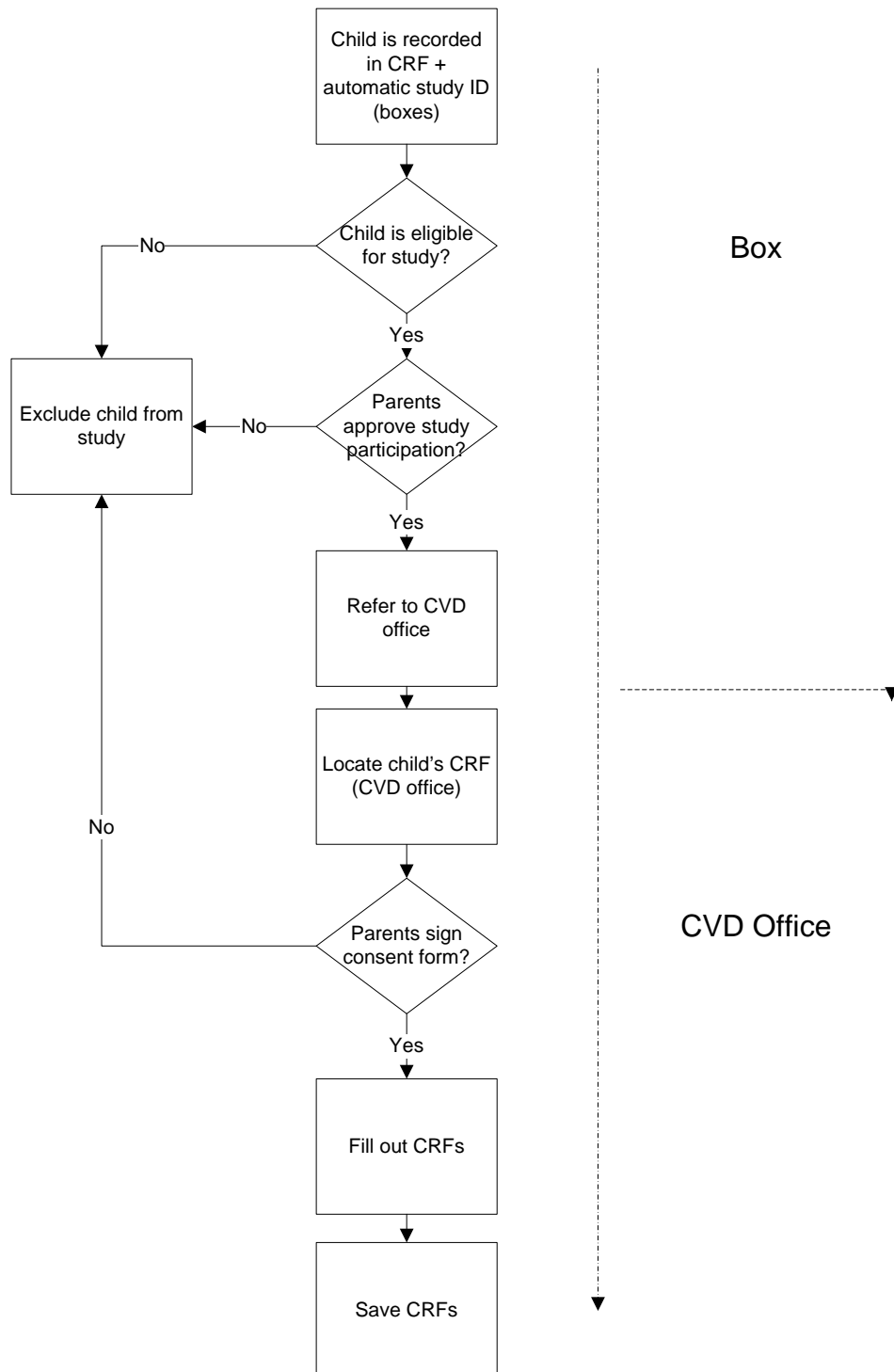


Figure 16 : Les étapes de l'organigramme de HGT



3.9.1.2. Processus de l'étude

L'étude comprend les étapes suivantes :

A. Le recrutement des patients (sujets consentants)

Le processus est composé des étapes suivantes :

- a. tous les enfants venus pour les soins à HGT sont vus en premier dans les salles d'examens ou Box de consultation (environ 30.000 enfants par an)
- b. chaque enfant est sélectionné dans l'une des quatre "Salles" (les salles de consultation), chaque sélection est effectuée par un interne de CVD et un médecin de HGT. Le recrutement dans la salle est fait à l'aide de 1 ordinateur portable (PC)
- c. l'interne de CVD prend et enregistre la température de chaque enfant
- d. l'interne de CVD maintient un enregistrement de notation pour chaque enfant. La notation inclut des données générales administratives, et des données démographiques. Elle inclut les informations suivantes :
 - i. le numéro d'identification de l'étude, qui est un nombre séquentiel créé automatiquement. (Chaque enfant aura une identification d'étude créée dans cette étape, même si il ou elle n'est pas habilité pour l'étude.
 - ii. le code d'identification sélectionné par l'interne à partir d'une liste et sinon dans la liste, un nom peut être entré en texte libre.
 - iii. la date et l'heure de visite.
 - iv. l'âge de l'enfant en mois jusqu'à 47 mois puis les années
 - vi. le sexe de l'enfant
 - v. le lieu de résidence de l'enfant (commune) de Bamako, plus le quartier dans la dite commune.
 - vii. la région au Mali, si l'enfant ne réside pas à Bamako.
 - viii. l'appartenance ethnique
- e. l'interne de CVD commence la section de diagnostic, qui inclut les informations suivantes :
 - i. L'interne énumère jusqu'à 2 diagnostics suspectés de la maladie de SIBI (Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive). SIBI pouvant être pneumonie, méningite, cellulites ou abcès des tissus mous, arthrite, ostéomyélite, péricardite, péritonite, emphysème pleural, myosites, septicémies.
 - ii. A la question SIBI, répondre par oui/non
 - iii. A la question hospitalisé, répondre par oui/non
 - iv. A la question Nouveau-né, répondre par Oui/non (le nouveau-né étant un enfant qui n'est pas sorti de l'hôpital depuis sa naissance)
- f. l'interne de CVD détermine si l'enfant rassemble les critères suivants pour son inclusion dans l'étude :



i. pour l'admission des patients hospitalisés de HGT ("sujet hospitalisé") :

- 0-15 ans, et
- pas des nouveau-nés
- patients admis au service d'hospitalisation de HGT, et
- la température auxiliaire ≥ 39 °C, ou SIBI = Oui

ii. pour les patients des urgences de HGT ("patients externes", environ 900/ans), répondre par oui/non

- 0-35 mois d'âge, et
- patients non admis au service d'hospitalisation de HGT, et
- la température auxiliaire ≥ 39 °C, ou SIBI= Oui

g. l'interne de CVD remplit l'étude de patient hospitalisé Eligible, patient en consultation externe, non éligible.

h. l'interne de CVD commence l'inscription : Seulement si le patient hospitalisé est habilité à l'étude « patients externes », l'interne de CVD remplit suivant

- proposition d'inclusion oui/non
- inclusion oui/non
- si non inclus/ pourquoi
- la température de l'enfant

Pour cette étape le formulaire – ER (Emergency Room= Salle d'urgence) est employée.

B. Inclusion et Collecte des données cliniques initiales :

Les enfants qui remplissent les critères ci-dessus et dont les parents montrent un intérêt en participant à l'étude, sont référés par un médecin de CVD dans un bureau adjacent de CVD aux consultations externes.

Le premier processus de rencontre dans le bureau de CVD inclut :

- un revu sur l'étude et ses implications et la signature d'un consentement (en utilisant le consentement écrit sur papier), qui n'est pas prévu dans le système solution de GDHealth. Le « Case Report Form » ou Fiche Individuelle de Cas inclura dans le checkbox le formulaire de consentement (s'il était signé sur papier).
- l'Inclusion des sujets et les examens soumis ce qui a comme conséquence des données remplies dans la Fiche Individuelle de Cas. 80% des données sont enregistrées lors de la première rencontre. Des données additionnelles seront ajoutées quand elles deviennent disponibles. Les données entrées dans cette étape incluent :
 - l'information clinique
 - d'autres maladies (paludisme, rougeole, diarrhée)
 - des échantillons prélevés (l'équipe de CVD prélèvent seulement les échantillons de sang, d'autres cultures - faites par les médecins réguliers sont justement acceptées par l'équipe de CVD, et mises en culture.



C. Collecte des données de microbiologie et d'autres laboratoires :

Une hémoculture est obtenue à partir de chaque enfant inclus. La culture d'autres fluides stériles de l'organisme et leur coloration de Gram peuvent être faites si la clinique le recommande. D'autres analyses de laboratoire telles que le Comptage des cellules du Liquide Céphalo- Rachidien (LCR) le comptage des Globules Blancs et l'agglutination de latex du LCR peuvent également être obtenus. Les résultats de laboratoire seront saisis sur papier et puis fermés sous clé dans la Fiche Individuelle de Cas au bureau de CVD.

D. Données du suivi des résultats cliniques de l'hospitalisation :

Les résultats de suivi seront saisis sur papier et puis introduits sur Fiche Individuelle de Cas dans l'ordinateur au bureau de CVD.

3.9.2. Matériels et Connexions

Le centre de recherche où les données sont saisies est situé à HGT.

La figure suivante est une vue d'ensemble des sites de l'étude et la carte des connexions :

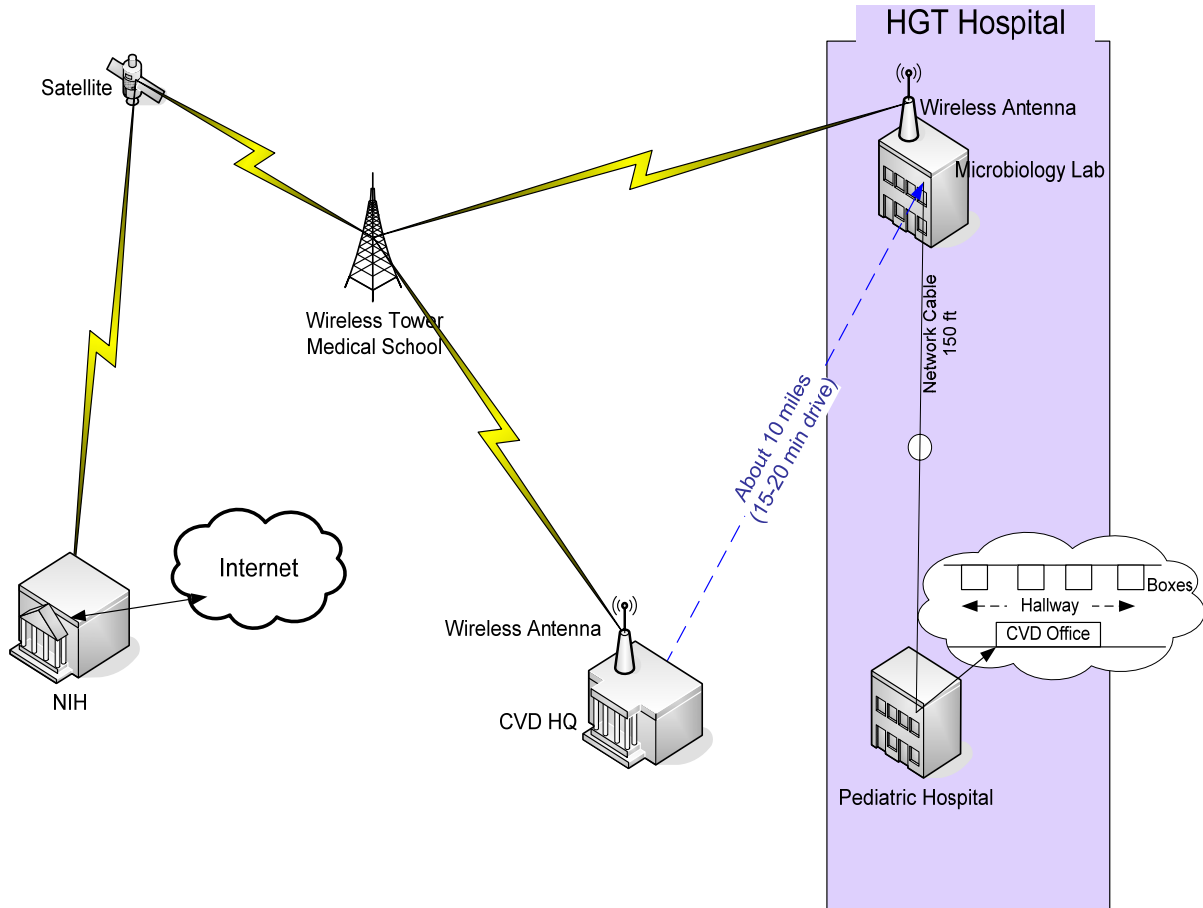


Figure 17 : L'étude de Connectivité de HGT



1 ordinateur est en place dans chaque box à l'usage de l'interne CVD pour la collecte des données.

1 ordinateur est en place dans le bureau du CVD-HGT à l'usage du médecin de CVD.

Cet ordinateur est relié à un serveur de clinique situé dans la même salle.

Le serveur de clinique est relié au laboratoire de microbiologie par l'intermédiaire d'un câble de réseau de 150 pieds.

Les données supplémentaires du laboratoire de microbiologie sont saisies manuellement et introduites à l'aide d'un ordinateur dans le programme au bureau de CVD-HGT.

Une connexion existe à tout moment entre le serveur, le bureau des médecins CVD et les box de consultation; ceci est mis en application en utilisant le raccordement de câble Internet entre les box, le bureau du CVD et le laboratoire de microbiologie.

La liaison Internet (satellite) existe dans le laboratoire de microbiologie, ainsi le laboratoire de microbiologie sert de port du serveur pour l'Internet.

La connexion Internet doit être assez fiable pour tenir compte de la réplique de temps en temps des données sur le serveur local au serveur de CVD- UMD.

Pour des raisons d'amélioration, GDH recommande d'installer le serveur de clinique dans le laboratoire de microbiologie et de relier les 3 box à lui à travers un câble fixe.

La mise à jour des données précédemment saisies est faite par un ordinateur portable. Puisque celui-ci sera relié à la base de données par l'intermédiaire de la connexion Internet, toutes les mises à jour sont immédiatement répliqués afin d'éliminer toutes pertes ou discordance dans les données.

Le diagramme de l'ensemble est schématisé sur la figure ci-après :

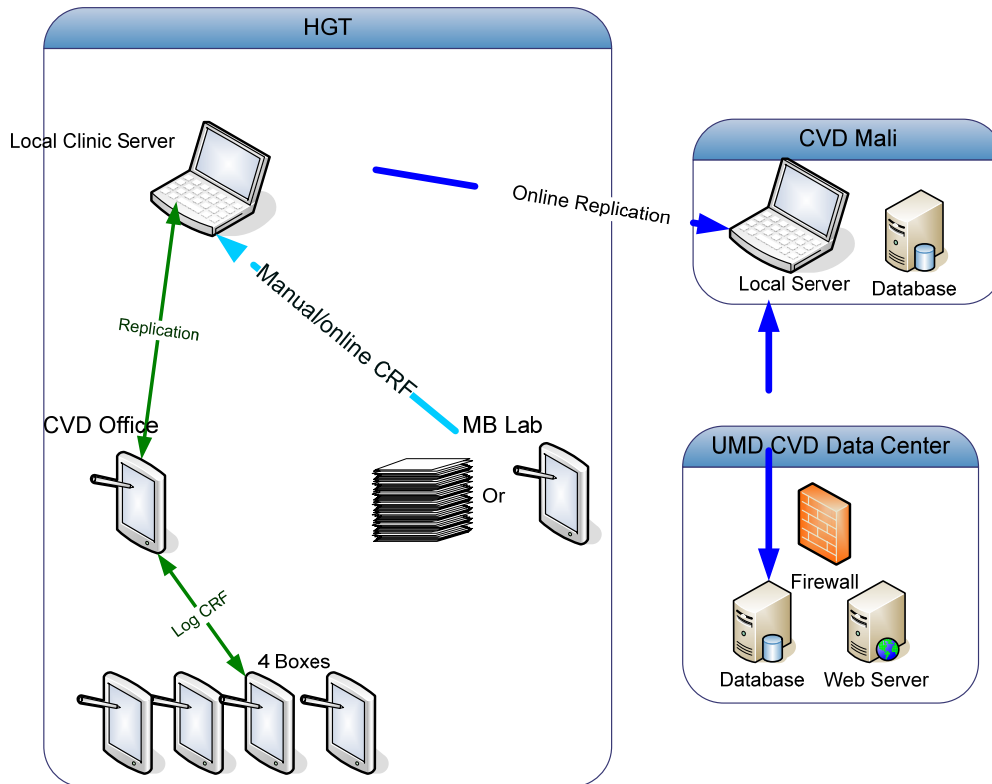


Figure 18 : Les données d'étude de HGT flux diagramme

RESULTATS



4. RESULTATS

4.1.RESULTATS DES CONTROLES DE QUALITE EFFECTUES

4.1.1 Contrôle de qualité des réactifs de la coloration de Gram

Tableau VIII : Contrôle de qualité des réactifs de la coloration de gram

MOIS DE JANVIER 2006

A exécuter : A l'ouverture de chaque boîte et par semaine

Pour Préparer une lame: Placer une goutte de solution saline sur une lame de verre propre. Prélever une colonie d'*E. coli* ATCC 25922 avec une anse d'inoculation puis transférer la colonie sur la lame de verre. Préparer une seconde colonie de *S. aureus* ATCC 25923 avec une anse d'inoculation puis la transférer sur la première. Laisser le frottis sécher. Fixer le en chauffant puis le colorer.

Date	Tech	Cristal Violet		Sol. Lugol		Décolorant		Safranine		Résultats	
		Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	<i>E. coli</i> GNB	<i>S. aureus</i> GPC
1											
2											
3											
4	SAS	436442	30/11/2005	429938	30/08/2006	434941	30/10/2006	433040	30/08/2006	BGN	CGP
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11	SAS	436442	30/11/2005	429938	30/08/2006	434941	30/10/2006	433040	30/08/2006	BGN	CGP
12											
13											
14											
15											



Date	Tech	Cristal Violet		Sol. Lugol		Décolorant		Safranine		Résultats	
		Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	Lot #	Expir. date	<i>E. coli</i> GNB	<i>S. aureus</i> GPC
16											
17											
18											
19											
20											
21	SAS	436442	30/11/2005	429938	30/08/2006	434941	30/10/2006	433040	30/08/2006	BGN	CGP
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
30	SAS	436442	30/11/2005	429938	30/08/2006	434941	30/10/2006	433040	30/08/2006	BGN	CGP
31											

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Les résultats montrent que les réactifs utilisés répondent aux normes de qualité



4.1.2 Test de catalase

Tableau IX : TEST DE CATALASE

Exécuté: CHAQUE SEMAINE

MOIS/ ANNEE: **DECEMBRE 2005**

Date	Numéro du lot	Date d'expiration	(+) Contrôle <i>S. aureus</i>	(-) Contrôle <i>S. pyogene</i>	Technicien	Commentaires/ action corrective
1						
2						
3						
4						
5	789991901	26/11/2006	(+)	(-)	S. A. S	
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12	789991901	26/11/2006	(+)	(-)	S. A. S	
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20	789991901	26/11/2006	(+)	(-)	S. A. S	
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27	789991901	26/11/2006	(+)	(-)	S. A. S	
28						
29						
30						
31						

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Le Peroxyde d'hydrogène à 3% testé sur les souches de *STAPHYLOCOCCUS aureus* et *STREPTOCOCCUS pyogenes* est de bonne qualité différenciant Streptocoques et Staphylocoques.



4.1.3 Test de coagulase

Tableau X : TEST DE COAGULASE

Micro-organismes de contrôle:

Exécuté: CHAQUE SEMAINE

(+) Contrôle-- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

(+) Contrôle -- Coagulase- négatif *Staphylococcus spp.*

MOIS/ ANNEE: **DECEMBRE 2005**

Date	Numéro du lot	Date d'expiration	(+) Contrôle <i>S. aureus</i>	(-) Contrôle <i>Staph spp.</i>	Technicien	Commentaires/ action corrective
1						
2						
3						
4						
5	5D2367	30/03/2006	(+)	(-)	S. A. S	
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12	5D2367	30/03/2006	(+)	(-)	S. A. S	
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20	5D2367	30/03/2006	(+)	(-)	S. A. S	
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27	5D2367	30/03/2006	(+)	(-)	S. A. S	
28						
29						
30						
31						

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Le plasma de lapin lyophilisé est reconstitué juste pour emploi. Il est de bonne qualité, permettant de différencier *STAPHYLOCOCCUS aureus* des autres Staphylocoques.



4.1.4 Test d'oxydase

Tableau XI : TEST D'OXYDASE

Exécuté: CHAQUE SEMAINE

MOIS/ ANNEE: **DECEMBRE 2005**

Date	Numéro du lot	Date d'expiration	(+) Contrôle <i>H. influenzae</i>	(-) Contrôle <i>E. coli</i>	Technicien	Commentaires/ action corrective
1						
2						
3						
4						
5	578620	06/06/2007	(+)	(-)	S. A. S	
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12	578620	06/06/2007	(+)	(-)	S. A. S	
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20	578620	06/06/2007	(+)	(-)	S. A. S	
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27	578620	06/06/2007	(+)	(-)	S. A. S	
28						
29						
30						
31						

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Le réactif d'oxydase est de bonne qualité, permettant de différencier *HAEMOPHILUS influenzae* de *ESCHERICHIA coli*.

**4.1.5 Contrôle de qualité du disque de BACITRACINE (A)****Tableau XII : Contrôle de qualité du disque de BACITRACINE (A)****Micro-organismes de contrôle :**

A exécuter : Chaque semaine

(+ Contrôle : *S. pyogènes* ATCC 19615(- Contrôle : *S. agalactiae* ATCC 12386Mois de **Février 2006**

Date Tech	Numéro du lot	Date d'Expir.	(+) Contrôle Sensible (S)	(-) Contrôle Résistant (R)	Date Lect	Commentaires/ Action corrective
01/02/06	51401188	30/06/09	(+)	(-)	02/02/06	
08/02/06	51401188	30/06/09	(+)	(-)	09/02/06	
15/02/06	51401188	30/06/09	(+)	(-)	16/02/06	
22/02/06	51401188	30/06/09	(+)	(-)	23/02/06	
28/02/06	51401188	30/06/09	(+)	(-)	01/03/06	

Technique effectuée par : **S. A. S**Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Le disque de Bacitracine (A) dosé à 0,04 UI permet le test de sensibilité entre *STREPTOCOCCUS pyogenes* et *STREPTOCOCCUS pneumoniae*. Toute autre concentration est inappropriée.

4.1.6 Contrôle de qualité du disque de OPTOCHINE (P)**Tableau XIII : Contrôle de qualité du disque de OPTOCHINE (P)****Micro-organismes de contrôle :**

A exécuter : Chaque semaine

(+ Contrôle : *S. pneumoniae* Patient N°12426(- Contrôle : *S. pyogènes* ATCC 19615Mois de **Février 2006**

Date Tech	Numéro du lot	Date d'Expir.	(+) Contrôle Sensible (S)	(-) Contrôle Résistant (R)	Date Lect	Commentaires/ Action corrective
01/02/06	796739701	03/08/06	(+)	(-)	02/02/06	
08/02/06	796739701	03/08/06	(+)	(-)	09/02/06	
15/02/06	796739701	03/08/06	(+)	(-)	16/02/06	
22/02/06	796739701	03/08/06	(+)	(-)	23/02/06	
28/02/06	796739701	03/08/06	(+)	(-)	01/03/06	

Technique effectuée par : **S. A. S**Superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Le disque d'Optochine (P) ou chlorhydrate d'éthyl- cupréine est de bonne qualité pour la différenciation de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* des autres Streptocoques.



4.1.7 Contrôle de qualité de la galerie API 20 E

Tableau XIV : CONTROLE DE QUALITE DE LA GALERIE API 20 E

A EXECUTER A LA RECEPTION ET PUIS PAR MOIS

REACTIONS A LIRE APRES 18 - 24 HEURES D'INCUBATION 35 – 37°C

API 20 E LOT#: 794285701

DATE TECH/TECH S. A. S 02/03/2006

DATE D'EXP: 19/11/2006

DATE LECT/TECH S. A. S 03/03/2006

SUPV.REV/DATE Dr S. D 03/03/2006

MICRO-ORGANISME DE CONTROLE : *ESCHERICHIA coli* ATCC 25922

RESULT	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO ₂	N ₂
ATTEND	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-
24 H	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+		

DATE/ Tech 04/03/2006 S. A S

DATE/ Supr 04/03/2006 Dr S. D

Réactifs	Lot#	Date d'Expiration
Ferric Chloride		
Kovacs / James	795254401	10/12/2006
Sulfanilic Acid		
N, N-dimethyl-alpha-naphthylamine		
Potassium Hydroxide (VP1)*	794453601	12/05/2006
Alpha-naphtol (VP2)*	794454801	07/08/2006
Zinc Dust		

- VP1 et VP2 expire 30 jours après la date d'ouverture de réactifs

Commentaire : Le réactif de révélation et la galerie API 20 E sont bien conservés et répondent aux normes de qualité



4.1.8 Contrôle de qualité des disques de facteurs X, V, et XV

Tableau XV : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES DE FACTEURS X, V, ET XV MOIS DE FEVRIER 2006

A exécuter : En ouvrant chaque boîte et puis chaque semaine

Micro-organisme de contrôles :

H. influenzae ATCC 49247

H. parainfluenzae ATCC 7901

Date Exec/Tech: 02/02/06 SAS Date lect/Tech: 03/02/06 Surveillance du Superviseur: Dr S.D

Disque du facteur	Numéro du lot	Date d'Expir.	Réactions attendues		Réactions observées	
			<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>
Disque X	347184	06/2006	Pas de croissance	Pas de croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>
Disque V	347183	06/2006	Pas de croissance	Croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Croissance</i>
Disque XV	4301076	18/12/06	Croissance	Pas de croissance	<i>Croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>

Date Exec/Tech: 10/02/06 SAS Date lect/Tech: 11/02/06 Surveillance du Superviseur: Dr S.D

Disque du facteur	Numéro du lot	Date d'Expir.	Réactions attendues		Réactions observées	
			<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>
Disque X	347184	06/2006	Pas de croissance	Pas de croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>
Disque V	347183	06/2006	Pas de croissance	Croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Croissance</i>
Disque XV	4301076	18/12/06	Croissance	Pas de croissance	<i>Croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>

Date Exec/Tech: 17/02/06 SAS Date lect/Tech: 18/02/06 Surveillance du Superviseur: Dr S.D

Disque du facteur	Numéro du lot	Date d'Expir.	Réactions attendues		Réactions observées	
			<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>
Disque X	347184	06/2006	Pas de croissance	Pas de croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>
Disque V	347183	06/2006	Pas de croissance	Croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Croissance</i>
Disque XV	4301076	18/12/06	Croissance	Pas de croissance	<i>Croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>

Date Exec/Tech: 27/02/06 SAS Date lect/Tech: 28/02/06 Surveillance du Superviseur: Dr S.D

Disque du facteur	Numéro du lot	Date d'Expir.	Réactions attendues		Réactions observées	
			<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenz.</i>
Disque X	347184	06/2006	Pas de croissance	Pas de croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>
Disque V	347183	06/2006	Pas de croissance	Croissance	<i>Pas de croissance</i>	<i>Croissance</i>
Disque XV	4301076	18/12/06	Croissance	Pas de croissance	<i>Croissance</i>	<i>Pas de croissance</i>



4.1.9 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas I

Tableau XVI : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE –STAPHYLOCOCCUS ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas I

MOIS MARS 2006

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation

Les antibiotiques suivants sont testés contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 sur gélose au sang de Müller- Hinton. Incubés boîtes à 35°C en aérobose.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		Commentaires/ Action Corrective
			Attendu	Observé	Attendu	Observé	
Ampicilline	395544	05/08	16 – 22 mm	17 mm	27 – 37 mm		
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	29 – 35 mm	33 mm	22 – 28 mm	28 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	21 – 27 mm	29 mm	19 – 26 mm		
Ciprofloxacine	4D2153	15/04/06	30 – 40 mm	30 mm	22 – 30 mm		
Gentamicine	4 E3255	15/05/07	19 – 26 mm	18 mm	19 – 27 mm		
Pénicilline	3M2312	30/12/06	NT		26 – 37 mm	36 mm	
Oxacilline	4J3068	15/09/06	NT		18 – 24 mm	34 mm	
Cotrimoxazole (SXT)	4D2338	30/04/06	23 – 29 mm	24 mm	24 – 32 mm		
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 07/03/06 S. A. S		Date lect/ Tech 08/03/06 S. A. S			Superviseur : 08/03/06 Dr S. D		

**4.1.10 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas II****Tableau XVII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE –STAPHYLOCOCCUS ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas II****MOIS MARS 2006**

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation

Les antibiotiques suivants sont testés contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 sur gélose au sang de Müller- Hinton.
Incubés boîtes à 35°C en aérobiose.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		Commentaires/ Action Corrective
			Attendu	Observé	Attendu	Observé	
Ampicilline	395544	05/08	16 – 22 mm	19 mm	27 – 37 mm		
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	29 – 35 mm	31 mm	22 – 28 mm	29 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	21 – 27 mm	27 mm	19 – 26 mm		
Ciprofloxacine	4D2153	15/04/06	30 – 40 mm	31 mm	22 – 30 mm		
Gentamicine	4 E3255	15/05/07	19 – 26 mm	17 mm	19 – 27 mm		
Pénicilline	3M2312	30/12/06	NT		26 – 37 mm	35 mm	
Oxacilline	4J3068	15/09/06	NT		18 – 24 mm	30 mm	
Cotrimoxazole (SXT)	4D2338	30/04/06	23 – 29 mm	22 mm	24 – 32 mm		
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 14/03/06 S. A. S		Date lect/ Tech 15/03/06 S. A. S			Superviseur : 15/03/06 Dr S. D		



4.1.11 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas III

Tableau XVIII : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE –STAPHYLOCOCCUS ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas III

MOIS MARS 2006

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation

Les antibiotiques suivants sont testés contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 sur gélose au sang de Müller- Hinton. Incubés boîtes à 35°C en aérobose.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		Commentaires/ Action Corrective
			Attendu	Observé	Attendu	Observé	
Ampicilline	395544	05/08	16 – 22 mm	16 mm	27 – 37 mm		
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	29 – 35 mm	34 mm	22 – 28 mm	28 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	21 – 27 mm	29 mm	19 – 26 mm		
Ciprofloxacine	4D2153	15/04/06	30 – 40 mm	29 mm	22 – 30 mm		
Gentamicine	4 E3255	15/05/07	19 – 26 mm	18 mm	19 – 27 mm		
Pénicilline	3M2312	30/12/06	NT		26 – 37 mm	35 mm	
Oxacilline	4J3068	15/09/06	NT		18 – 24 mm	28 mm	
Cotrimoxazole (SXT)	4D2338	30/04/06	23 – 29 mm	24 mm	24 – 32 mm		
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 21/03/06 S. A. S		Date lect/ Tech 22/03/06 S. A. S			Superviseur : 22/03/06 Dr S. D		



4.1.12 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique –STAPHYLOCOCCUS et Bacilles Gram négative – Cas IV

Tableau XIX : CONTROLE DE QUALITE DU DISQUE D'ANTIBIOTIQUE –STAPHYLOCOCCUS ET BACILLES GRAM NEGATIVE – Cas IV

MOIS MARS 2006

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation

Les antibiotiques suivants sont testés contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 sur gélose au sang de Müller- Hinton. Incubés boîtes à 35°C en aérobiose.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		Commentaires/ Action Corrective
			Attendu	Observé	Attendu	Observé	
Ampicilline	395544	05/08	16 – 22 mm	20 mm	27 – 37 mm		
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	29 – 35 mm	29 mm	22 – 28 mm	30 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	21 – 27 mm	30 mm	19 – 26 mm		
Ciprofloxacine	4D2153	15/04/06	30 – 40 mm	35 mm	22 – 30 mm		
Gentamicine	4 E3255	15/05/07	19 – 26 mm	24 mm	19 – 27 mm		
Pénicilline	3M2312	30/12/06	NT		26 – 37 mm	35 mm	
Oxacilline	4J3068	15/09/06	NT		18 – 24 mm	30 mm	
Cotrimoxazole (SXT)	4D2338	30/04/06	23 – 29 mm	25 mm	24 – 32 mm		
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 28/03/06 S. A. S		Date lect/ Tech 29/03/06 S. A. S			Superviseur : 29/03/06 Dr S. D		



4.1.13 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique – *STREPTOCOCCUS pneumoniae*

Tableau XX : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUE –*STREPTOCOCCUS pneumoniae*

MOIS DE MARS 2006

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation.

Les antibiotiques suivants sont testés contre *STREPTOCOCCUS pneumoniae* Patient N°12426 sur gélose au sang de Müller- Hinton. Placer les boîtes dans un pot à bougie et incuber à 35°C.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	30-35 mm	29 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	23-27 mm	22 mm	
Erytromycine	4D3222	30/04/06	25-30 mm	32 mm	
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	
Date Tech/Tech 06/03/06 SAS		Date lect/Tech 07/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	30-35 mm	32 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	23-27 mm	25 mm	
Erytromycine	4D3222	30/04/06	25-30 mm	24 mm	
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	
Date Tech/Tech 09/03/06 SAS		Date lect/Tech 10/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	30-35 mm	28 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	23-27 mm	20 mm	
Erytromycine	4D3222	30/04/06	25-30 mm	31 mm	
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	
Date Tech/Tech 13/03/06 SAS		Date lect/Tech 14/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	30-35 mm	32 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	23-27 mm	28 mm	
Erytromycine	4D3222	30/04/06	25-30 mm	29 mm	
Müller- Hinton	800568401	20/04/06	N/A	N/A	
Date Tech/Tech 16/03/06 SAS		Date lect/Tech 17/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	



4.1.14 Contrôle de qualité du disque d'antibiotique – HAEMOPHILUS influenzae type b

Tableau XXI : CONTROLE DE QUALITE DES DISQUES D'ANTIBIOTIQUE – HAEMOPHILUS influenzae type b

MOIS DE MARS 2006

A exécuter : Chaque jour en cas d'utilisation.

Les antibiotiques suivants sont testés contre *HAEMOPHILUS influenzae* type b ATCC 49247 sur gélose chocolat. Placer les boites dans un pot à bougie et incuber à 35°C.

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Ampicilline	395544	05/08	13-21 mm	25 mm	
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	31-39 mm	22 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	31-40 mm	15 mm	
Gélose chocolat	800721701	15/03/06	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 06/03/06 SAS		Date lect/ Tech 07/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Ampicilline	395544	05/08	13-21 mm	22 mm	
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	31-39 mm	31 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	31-40 mm	30 mm	
Gélose chocolat	800721701	15/03/06	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 09/03/06 SAS		Date lect/ Tech 10/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Ampicilline	395544	05/08	13-21 mm	24 mm	
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	31-39 mm	30 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	31-40 mm	27 mm	
Gélose chocolat	800721701	15/03/06	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 13/03/06 SAS		Date lect/ Tech 14/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	

Antibiotique	Numéro du lot	Date d'Expiration	Résultat attendu	Résultat observé	Commentaires/ Action corrective
Ampicilline	395544	05/08	13-21 mm	22 mm	
Céftriaxone	4F3104	30/06/06	31-39 mm	33 mm	
Chloramphénicol	4F2153	15/06/06	31-40 mm	30 mm	
Gélose chocolat	800721701	15/03/06	N/A	N/A	
Date Tech/ Tech 16/03/06 SAS		Date lect/ Tech 17/03/06		Suprv. Surv. Dr S. D	



4.1.15. Contrôle de qualité de la gélose MAC CONKEY

Tableau XXII : CONTROLE DE QUALITE DE LA GELOSE MAC CONKEY

MOIS DE MARS 2006

A exécuter : A la réception et puis chaque mois

A la réception, examiner le lot pour : Contamination = 0

Hémolyse = 0

Boîtes cassées = 0

Numéro du Lot	Date d'Expir.	Organismes de QC	Réactions attendues	Réactions observées	Date lect/ Tech
801129801	15/05/06	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Croissance	Croissance	08/03/06 S. A. S
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Pas de croissance	Pas de croissance	08/03/06 S. A. S

Approbation du superviseur : **Dr S. D**

4.1.16. Contrôle de qualité de la gélose au sang de cheval

Tableau XXIII : CONTROLE DE QUALITE DE LA GELOSE AU SANG DE CHEVAL

MOIS DE MARS 2006

A exécuter : A la réception et puis chaque mois

A la réception, examiner le lot pour : Contamination = 0

Hémolyse = 0

Boîtes cassées = 0

Numéro du Lot	Date d'Expir.	Organismes de QC	Réactions attendues	Réactions observées	Date lect/ Tech
802331901	11/05/06	<i>S. pyogènes</i> ATCC 19615	Croissance & bêta hémolyse	Croissance & bêta hémolyse	08/03/06 S. A. S
		<i>S. pneumoniae</i> Patient N°12426	Croissance & alpha hémolyse	Croissance & alpha hémolyse	08/03/06 S. A. S

Approbation du superviseur : **Dr S. D**



4.2.RESULTATS DES CONTROLES METROLOGIQUES DES INSTRUMENTS ET APPAREILS

4.2.1. Incubateur de 37 °C sans CO₂

Tableau XXIV : Incubateur de 37 °C sans CO₂ RELEVÉ DES TEMPERATURES QUOTIDIENNES

Mois/ Année : NOVEMBRE 2005

Incubateur

J.P.SELECTA

Intervalle de Température: 30 à 35 °C

Date	Technicien	Température	Commentaires/ Action Corrective
1	S. A. S	35 °C	
2	S. A. S	34 °C	
3	S. A. S	35 °C	
4	S. A. S	35 °C	
5	S. A. S	35 °C	
6	S. A. S	35 °C	
7	S. A. S	35 °C	
8	S. A. S	34 °C	
9	S. A. S	35 °C	
10	S. A. S	35 °C	
11	S. A. S	35 °C	
12	S. A. S	35 °C	
13	S. A. S	33 °C	
14	S. A. S	35 °C	
15	S. A. S	35 °C	
16	S. A. S	35 °C	
17	S. A. S	35 °C	
18	S. A. S	34 °C	
19	S. A. S	35 °C	
20	S. A. S	35 °C	
21	S. A. S	35 °C	
22	S. A. S	34 °C	
23	S. A. S	35 °C	
24	S. A. S	35 °C	
25	S. A. S	35 °C	
26	S. A. S	35 °C	
27	S. A. S	35 °C	
28	S. A. S	33 °C	
29	S. A. S	35 °C	
30	S. A. S	35 °C	

Approbation du superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Les températures relevées quotidiennement sont dans les normes.

**4.2.2. Incubateur à CO₂****Tableau XXV : Incubateur à CO₂
RELEVÉ DES TEMPERATURES QUOTIDIENNES**

Mois/ Année : NOVEMBRE 2005

Incubateur à CO₂

Intervalle de Température: 33 à 37 °C

Intervalle de CO₂ 5 à 7%

Date	Technicien	Température	CO ₂ 5 à 7%	Commentaires/ Action Corrective
1	S. A. S	36,9 °C	4,90%	
2	S. A. S	36,9 °C	5,40%	
3	S. A. S	36,9 °C	5,00%	
4	S. A. S	36,9 °C	4,90%	
5	S. A. S	36,9 °C	3,00%	
6	S. A. S	36,7 °C	5,70%	
7	S. A. S	36,8 °C	4,90%	
8	S. A. S	36,9 °C	5,00%	
9	S. A. S	36,6 °C	6,80%	
10	S. A. S	36,9 °C	5,10%	
11	S. A. S	36,9 °C	5,10%	
12	S. A. S	36,9 °C	5,20%	
13	S. A. S	36,9 °C	5,60%	
14	S. A. S	36,9 °C	4,50%	
15	S. A. S	36,6 °C	5,70%	
16	S. A. S	36,9 °C	5,20%	
17	S. A. S	36,9 °C	4,80%	
18	S. A. S	36,9 °C	5,30%	
19	S. A. S	36,9 °C	5,70%	
20	S. A. S	36,9 °C	4,80%	
21	S. A. S	36,9 °C	4,90%	
22	S. A. S	36,9 °C	5,30%	
23	S. A. S	36,9 °C	4,80%	
24	S. A. S	36,9 °C	4,90%	
25	S. A. S	36,9 °C	5,20%	
26	S. A. S	36,9 °C	4,80%	
27	S. A. S	36,9 °C	5,70%	
28	S. A. S	36,9 °C	5,40%	
29	S. A. S	36,9 °C	5,70%	Changement CO ₂ (Dr S.Diallo)
30	S. A. S	36,9 °C	4,80%	

Approbation du superviseur : **Dr S. D****Commentaire :** Les températures relevées quotidiennement et les taux de CO₂ sont dans les normes.



4.2.3. Congélateur de – 20 à – 60 °C

Tableau XXVI : Congélateur de – 20 à – 60 °C RELEVÉ DES TEMPERATURES QUOTIDIENNES

Mois/ Année : NOVEMBRE 2005

Congélateur # 1

Intervalle de Température: -20 à -30 °C

Date	Technicien	Température	Commentaires/ Action Corrective
1	S. A. S	(-) 25 °C	
2	S. A. S	(-) 25 °C	
3	S. A. S	(-) 25 °C	
4	S. A. S	(-) 25 °C	
5	S. A. S	(-) 25 °C	
6	S. A. S	(-) 25 °C	
7	S. A. S	(-) 25 °C	
8	S. A. S	(-) 26 °C	
9	S. A. S	(-) 26 °C	
10	S. A. S	(-) 26 °C	
11	S. A. S	(-) 26 °C	
12	S. A. S	(-) 26 °C	
13	S. A. S	(-) 25 °C	
14	S. A. S	(-) 25 °C	
15	S. A. S	(-) 25 °C	
16	S. A. S	(-) 25 °C	
17	S. A. S	(-) 25 °C	
18	S. A. S	(-) 25 °C	
19	S. A. S	(-) 26 °C	
20	S. A. S	(-) 25 °C	
21	S. A. S	(-) 26 °C	
22	S. A. S	(-) 25 °C	
23	S. A. S	(-) 25 °C	
24	S. A. S	(-) 25 °C	
25	S. A. S	(-) 25 °C	
26	S. A. S	(-) 25 °C	
27	S. A. S	(-) 25 °C	
28	S. A. S	(-) 26 °C	
29	S. A. S	(-) 26 °C	
30	S. A. S	(-) 26 °C	

Approbation du superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Les températures relevées quotidiennement sont dans les normes.



4.2.4. Congélateur de – 60 à – 95 °C

Tableau XXVII : Congélateur de – 60 à – 95 °C RELEVÉ DES TEMPERATURES QUOTIDIENNES

Mois/ Année : NOVEMBRE 2005

Congélateur # 2

Intervalle de Température: -60 à -95°C

Date	Technicien	Température	Commentaires/ Action Corrective
1	S. A. S	(-) 76 °C	
2	S. A. S	(-) 77 °C	
3	S. A. S	(-) 76 °C	
4	S. A. S	(-) 76 °C	
5	S. A. S	(-) 77 °C	
6	S. A. S	(-) 76 °C	
7	S. A. S	(-) 77 °C	
8	S. A. S	(-) 77 °C	
9	S. A. S	(-) 79 °C	
10	S. A. S	(-) 77 °C	
11	S. A. S	(-) 78 °C	
12	S. A. S	(-) 76 °C	
13	S. A. S	(-) 77 °C	
14	S. A. S	(-) 76 °C	
15	S. A. S	(-) 76 °C	
16	S. A. S	(-) 77 °C	
17	S. A. S	(-) 76 °C	
18	S. A. S	(-) 77 °C	
19	S. A. S	(-) 76 °C	
20	S. A. S	(-) 76 °C	
21	S. A. S	(-) 77 °C	
22	S. A. S	(-) 79 °C	
23	S. A. S	(-) 77 °C	
24	S. A. S	(-) 78 °C	
25	S. A. S	(-) 77 °C	
26	S. A. S	(-) 74 °C	
27	S. A. S	(-) 80 °C	
28	S. A. S	(-) 26 °C	
29	S. A. S	(-) 80 °C	
30	S. A. S	(-) 79 °C	

Approbation du superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Les températures relevées quotidiennement sont dans les normes. Ce congélateur est dégivré tous les 6 mois.



4.2.5. Réfrigérateur de 2 à 8 °C

Tableau XXVIII : Réfrigérateur de 2 à 8 °C RELEVÉ DES TEMPERATURES QUOTIDIENNES

Mois/ Année : NOVEMBRE 2005

Réfrigérateur

Intervalle de Température: 2 à 8 °C

Date	Technicien	Température	Commentaires/ Action Corrective
1	S. A. S	3,0 °C	
2	S. A. S	2,8 °C	
3	S. A. S	2,6 °C	
4	S. A. S	2,8 °C	
5	S. A. S	2,8 °C	
6	S. A. S	2,7 °C	
7	S. A. S	2,8 °C	
8	S. A. S	2,5 °C	
9	S. A. S	2,5 °C	
10	S. A. S	2,5 °C	
11	S. A. S	2,5 °C	
12	S. A. S	2,8 °C	
13	S. A. S	2,5 °C	
14	S. A. S	2,6 °C	
15	S. A. S	2,5 °C	
16	S. A. S	2,7 °C	
17	S. A. S	3,3 °C	
18	S. A. S	2,9 °C	
19	S. A. S	2,9 °C	
20	S. A. S	3,0 °C	
21	S. A. S	3,1 °C	
22	S. A. S	3,2 °C	
23	S. A. S	3,0 °C	
24	S. A. S	3,0 °C	
25	S. A. S	3,0 °C	
26	S. A. S	2,7 °C	
27	S. A. S	2,7 °C	
28	S. A. S	2,6 °C	
29	S. A. S	2,7 °C	
30	S. A. S	2,7 °C	

Approbation du superviseur : **Dr S. D**

Commentaire : Les températures relevées quotidiennement sont dans les normes.



4.2.6. Nettoyage et surveillance des filtres d'air des automates Bactec

Tableau XXIX : TESTS HEBDOMADAIRES DU CONTROLE DE QUALITE DU BACTEC 9050

BACTEC N° : I

MOIS / ANNEE : MARS 2006

SURVEILLER ET NETTOYER LES FILTRE D' AIR	DEPLACER LE THERMOMETRE INTERIEUR
SEMAINE 1	SEMAINE 1
Date : 02/03/06 Tech : S. A. S	Date : 02/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 2	SEMAINE 2
Date : 09/03/06 Tech : S. A. S	Date : 09/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 3	SEMAINE 3
Date : 16/03/06 Tech : S. A. S	Date : 16/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 4	SEMAINE 4
Date : 23/03/06 Tech : S. A. S	Date : 23/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 5	SEMAINE 5
Date : 30/03/06 Tech : S. A. S	Date : 30/03/06 Tech : S. A. S

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**

BACTEC N° : II

MOIS / ANNEE : MARS 2006

SURVEILLER ET NETTOYER LES FILTRE D' AIR	DEPLACER LE THERMOMETRE INTERIEUR
SEMAINE 1	SEMAINE 1
Date : 03/03/06 Tech : S. A. S	Date : 03/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 2	SEMAINE 2
Date : 10/03/06 Tech : S. A. S	Date : 10/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 3	SEMAINE 3
Date : 17/03/06 Tech : S. A. S	Date : 17/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 4	SEMAINE 4
Date : 24/03/06 Tech : S. A. S	Date : 24/03/06 Tech : S. A. S
SEMAINE 5	SEMAINE 5
Date : 31/03/06 Tech : S. A. S	Date : 31/03/06 Tech : S. A. S

Approbation du Superviseur : **Dr S. D**



4.2.7. Contrôle de qualité de l'appareil Mac Farland

Tableau XXX : CONTROLE DE QUALITE DE L'APPAREIL NEFELEMETRE MAC FARLAND

A exécuter chaque semaine et au besoin

Date : 02/03/2006

Technicien : S. A. S

Standards en Unité Mac Farland	Résultats obtenus	Conformité valeurs cibles O/N	Actions correctives
0,0	0,0		
0,5	0,4		
1,0	1,1		
1,5	1,5		
2,0	2,0		
5,0	5,0		

Approbation du Chef de Service : **Dr S. D**

Date : 09/03/2006

Technicien : S. A. S

Standards en Unité Mac Farland	Résultats obtenus	Conformité valeurs cibles O/N	Actions correctives
0,0	0,0		
0,5	0,5		
1,0	1,0		
1,5	1,6		
2,0	2,0		
5,0	5,0		

Approbation du Chef de Service : **Dr S. D**

Date : 16/03/2006

Technicien : S. A. S

Standards en Unité Mac Farland	Résultats obtenus	Conformité valeurs cibles O/N	Actions correctives
0,0	0,0		
0,5	0,5		
1,0	1,0		
1,5	1,6		
2,0	2,0		
5,0	5,0		

Approbation du Chef de Service : **Dr S. D**

Date : 23/03/2006

Technicien : S.A. S

Standards en Unité Mac Farland	Résultats obtenus	Conformité valeurs cibles O/N	Actions correctives
0,0	0,0		
0,5	0,5		
1,0	1,0		
1,5	1,5		
2,0	2,0		
5,0	5,0		

Approbation du Chef de Service : **Dr S. D**



4.3.RESULTATS DES PRELEVEMENTS EFFECTUES

- Seul le résultat de la culture finale a été pris en compte pour l'identification des germes.
- Les Bacilles Gram Positifs (BGP), *STAPHYLOCOCCUS* Coagulase Négatif (SCN) encore appelé *STAPHYLOCOCCUS* non aureus (SNA), les levures ont été considérés ici comme des contaminants.

Les résultats ont été présentés ainsi qu'il suit :

- répartition des prélèvements effectués de 2002 à 2004
- résultats des hémocultures
- résultats des Liquides Céphalo- Rachidiens (LCR)
- résultats des autres liquides biologiques
- souches cliniques isolées ayant fait l'objet de contrôle à l'extérieur (CVD Baltimore-USA)

4.3.1. Répartition des prélèvements effectués de 2002 à 2004

Tableau XXXI : Répartition des prélèvements effectués de 2002 à 2004

Prélèvements	ANNEES			TOTAL	%
	2002	2003	2004		
Hémocultures	1978	1672	1844	5494	65
LCR	788	981	1038	2807	33
Autres liquides	47	54	51	152	2
TOTAL	2813	2707	2933	8453	100

Les prélèvements pour hémocultures étaient prédominants avec 5494 cas soit 65%, suivis des LCR avec 2807 cas soit 33,20%.

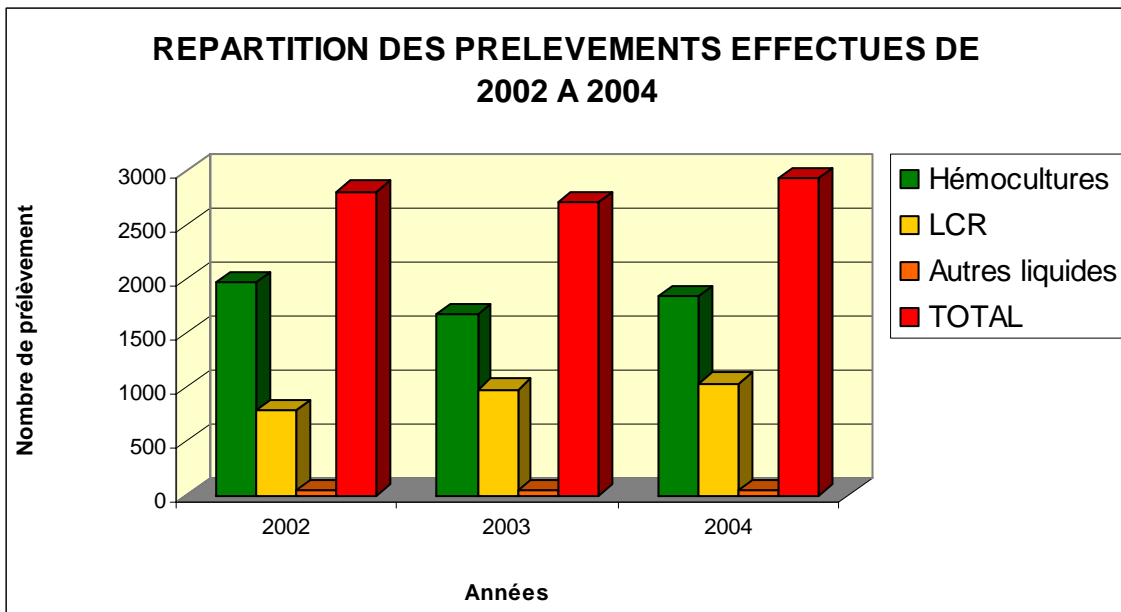


Figure 19 : Répartition des prélèvements effectués de 2002 à 2004

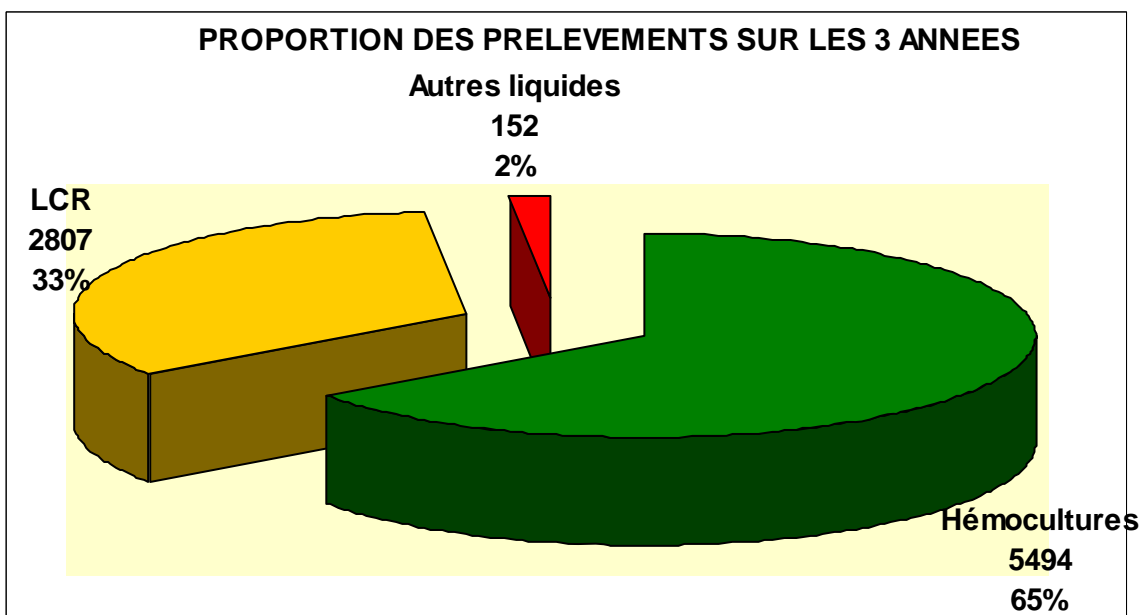


Figure 20 : Proportion des prélèvements sur les 3 années

4.3.2. Résultats pour les hémocultures

Tableau XXXII : Résultats pour les hémocultures

DESIGNATIONS	ANNEES			Total	%
	2002	2003	2004		
Résultats négatifs	1471	1182	1328	3981	72,46%
Nature des germes :					
<i>STREPTOCOCCUS pneumoniae</i>	78	100	115	293	5,33%
<i>HAEMOPHILUS influenzae</i> type b	12	99	122	233	4,24%
<i>SALMONELLA</i> spp	60	48	39	147	2,68%
<i>SALMONELLA typhi</i>	74	20	13	107	1,95%
<i>STAPHYLOCOCCUS aureus</i>	23	29	27	79	1,44%
<i>ESCHERICHIA coli</i>	17	08	17	42	0,76%
<i>SALMONELLA paratyphi</i> B	16	11	06	33	0,60%
<i>KLEBSIELLA pneumoniae</i>	03	03	05	11	0,20%
<i>PSEUDOMONAS aeruginosa</i>	03	06	02	11	0,20%
<i>NEISSERIA meningitidis</i> W135	02	08	01	11	0,20%
<i>STREPTOCOCCUS</i> non hémolytique	03	06	01	10	0,18%
<i>NEISSERIA meningitidis</i> groupe A	01	04	04	09	0,16%
<i>STREPTOCOCCUS</i> groupe A	03	02	03	08	0,15%
<i>ENTEROCOCCUS</i> spp	01	01	05	07	0,13%
<i>STREPTOCOCCUS</i> groupe B	04	01	01	06	0,11%
<i>MORGANELLA morganii</i>	01	02	02	05	0,09%
<i>CITROBACTER species</i>	02	01	02	05	0,07%
<i>CITROBACTER freundii</i>	01	00	02	03	0,07%
<i>HAEMOPHILUS parainfluenzae</i>	01	01	01	03	0,05%
<i>SALMONELLA arizonae</i>	01	01	01	03	0,05%
<i>SALMONELLA paratyphi</i> A	01	01	01	03	0,05%
<i>PSEUDOMONAS putida</i>	00	01	01	02	0,04%
<i>SALMONELLA paratyphi</i> C	01	00	01	02	0,04%
<i>ENTEROBACTER cloacae</i>	01	01	00	02	0,04%
<i>NEISSERIA meningitidis</i> groupe C	00	00	01	01	0,02%
<i>FLAVOBACTERIUM meningosepticum</i>	00	00	01	01	0,02%
Contaminants : (Valeur)	198	136	142		
(%)	10%	8%	8%		
Staphylococcus non aureus (SNA)	143	119	123	385	7,01%
Bacilles Gram Positif (BGP)	54	16	18	88	1,60%
Levures	01	01	01	03	0,05%
Autres	00	00	00	00	0,00%
TOTAL	1978	1672	1844	5494	100%

- Nombre de cultures stériles finales : 3981 soit 72,46% ;
- Le germe majoritaire est *STREPTOCOCCUS pneumoniae* avec 293 cas soit 5,33%, suivi de *HAEMOPHILUS influenzae* type b ;
- Le taux de contaminants est de : 10% en 2002, 8% en 2003 et 7% en 2004 ; pour une valeur admise de 10%.

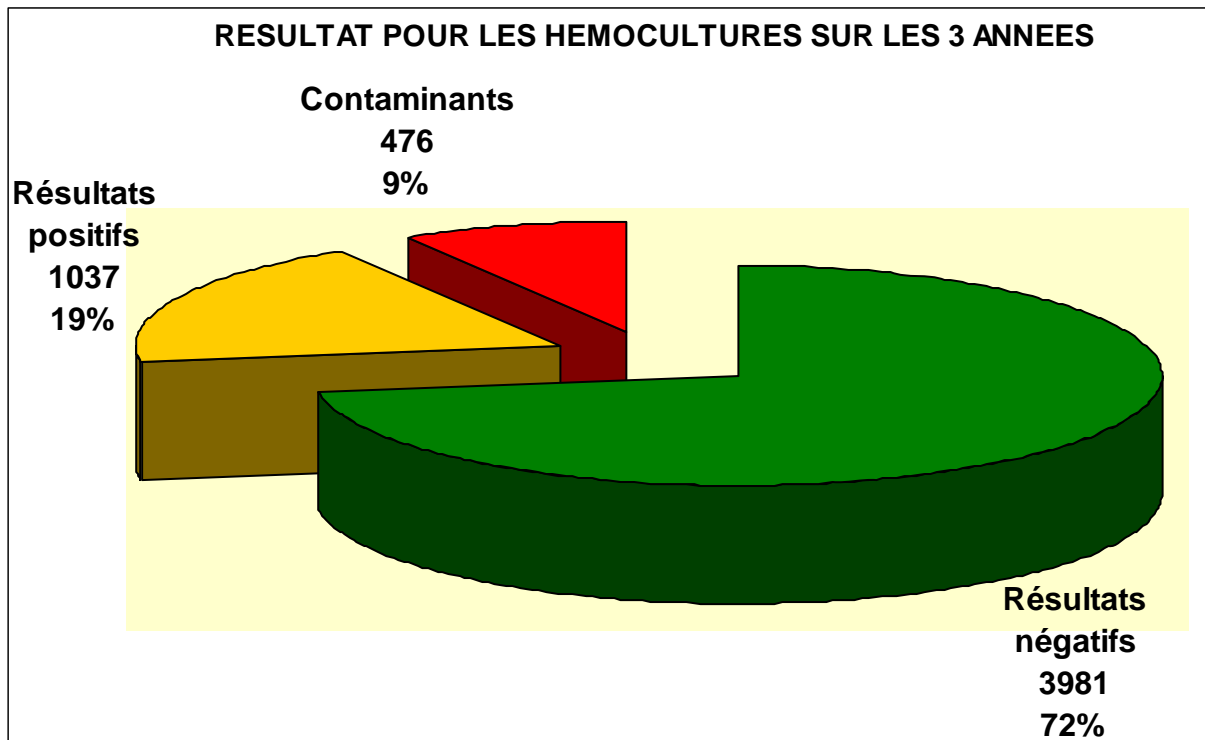


Figure 21 : Résultat pour les hémocultures sur les 3 années

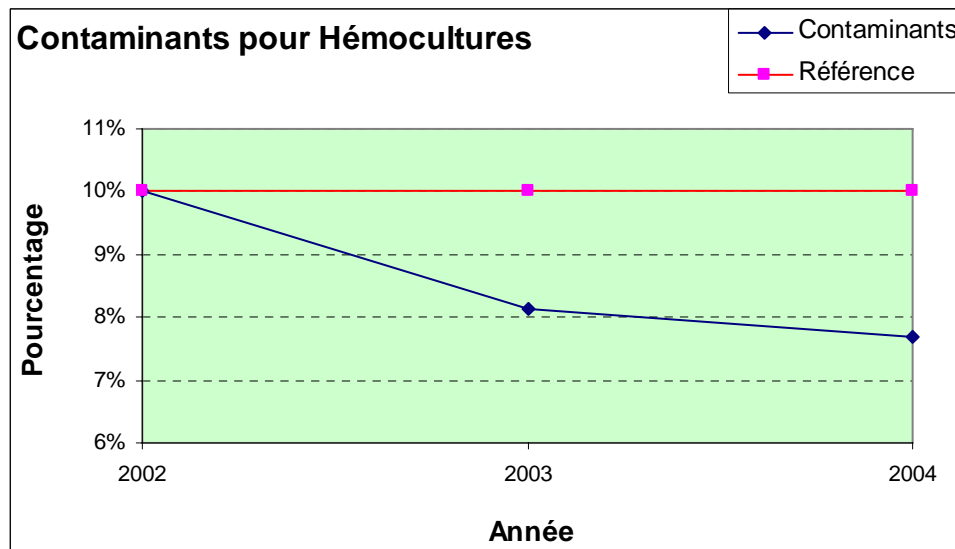


Figure 22 : Contaminants pour Hémocultures

4.3.3. Résultats pour les Liquides Céphalo-Rachidiens (LCR)

Tableau XXXIII : Résultats pour les LCR

DESIGNATIONS	ANNEES			Total	%
	2002	2003	2004		
Résultats négatifs	385	485	522	1392	49,59%
Nature des germes :					
<i>HAEMOPHILUS influenzae</i> type b	52	75	87	214	7,62%
<i>STREPTOCOCCUS pneumoniae</i>	45	68	77	190	6,77%
<i>SALMONELLA spp</i>	15	14	06	35	1,25%
<i>NEISSERIA meningitidis</i> groupe A	02	18	09	29	1,03%
<i>ESCHERICHIA coli</i>	04	05	05	14	0,50%
<i>NEISSERIA meningitidis</i> W135	00	08	06	14	0,50%
<i>SALMONELLA typhi</i>	03	01	04	08	0,29%
<i>PROTEUS mirabilis</i>	01	04	03	08	0,29%
<i>STREPTOCOCCUS</i> non hémolytique	01	02	04	07	0,25%
<i>STAPHYLOCOCCUS aureus</i>	03	02	02	07	0,25%
<i>HAEMOPHILUS parainfluenzae</i>	05	01	01	07	0,25%
<i>STREPTOCOCCUS</i> groupe B	01	01	03	05	0,18%
<i>SALMONELLA paratyphi</i> B	01	01	03	05	0,18%
<i>ENTEROCOCCUS spp</i>	01	02	01	04	0,14%
<i>KLEBSIELLA pneumoniae</i>	01	01	02	04	0,14%
<i>PSEUDOMONAS putida</i>	02	01	01	04	0,14%
<i>MOREXELLA specie</i>	01	01	01	03	0,11%
<i>KLEBSIELLA arizonae</i>	01	01	01	03	0,11%
<i>ACINETOBACTER calvocar</i>	00	01	02	03	0,11%
<i>PSEUDOMONAS aeruginosa</i>	00	01	01	02	0,07%
<i>ENTEROBACTER agglumera</i>	00	01	01	02	0,07%
<i>CITROBACTER freundii</i>	00	01	01	02	0,07%
<i>MORGANELLA morganii</i>	00	01	01	02	0,07%
<i>SALMONELLA paratyphi</i> A	00	01	00	01	0,04%
<i>ENTEROBACTER cloacae</i>	00	00	01	01	0,04%
<i>ENTEROBACTER sakasakii</i>	00	00	01	01	0,04%
Contaminants : (Valeur)	264	284	292		
(%)	34%	29%	28%		
Staphylococcus non aureus (SNA)	235	248	252	735	26,18%
Bacilles Gram Positif (BGP)	28	34	36	98	3,49%
Levures	01	02	04	07	0,25%
Autres	00	00	00	00	0,00%
TOTAL	788	981	1038	2807	100%

- Nombre de cultures stériles finales : 1392 soit 49,59% ;
- Le germe majoritaire est *HAEMOPHILUS influenzae* type b avec 214 cas soit 7,62%, suivi de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* ;
- Le taux de contaminants est de : 33% en 2002, 29% en 2003 et 28% en 2004 ; pour une valeur admise de 25%.

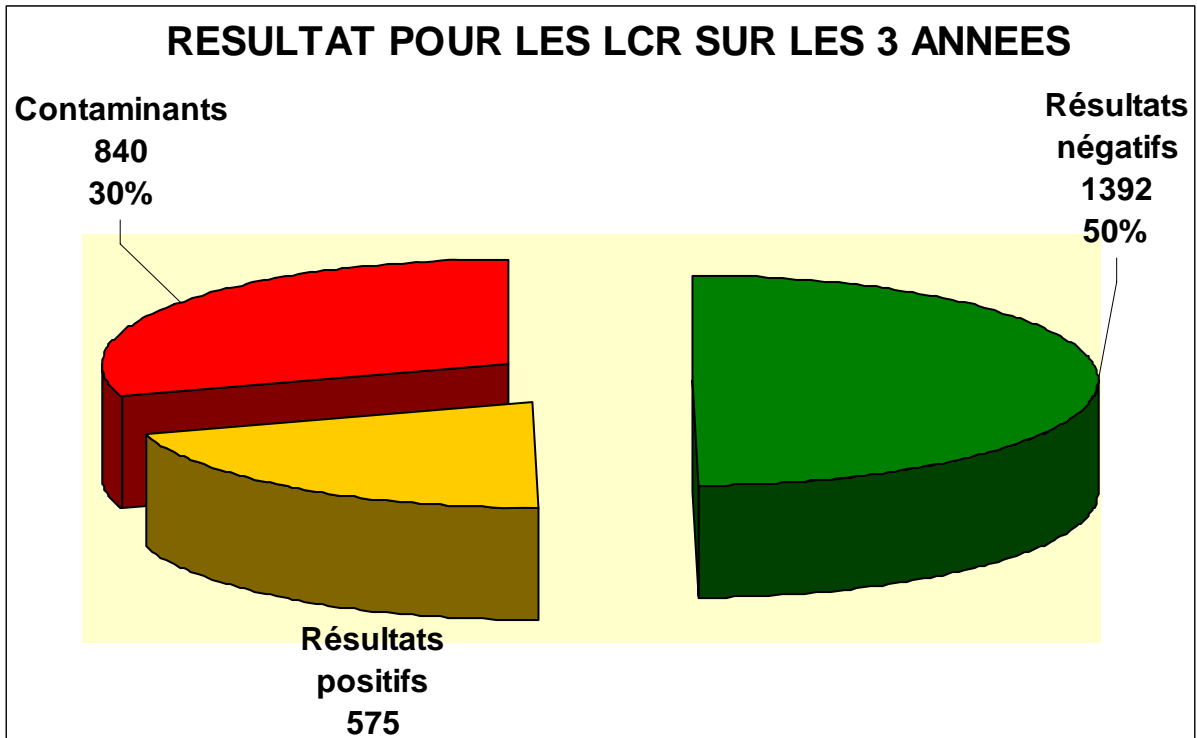


Figure 23 : Résultat pour les LCR sur les 3 années

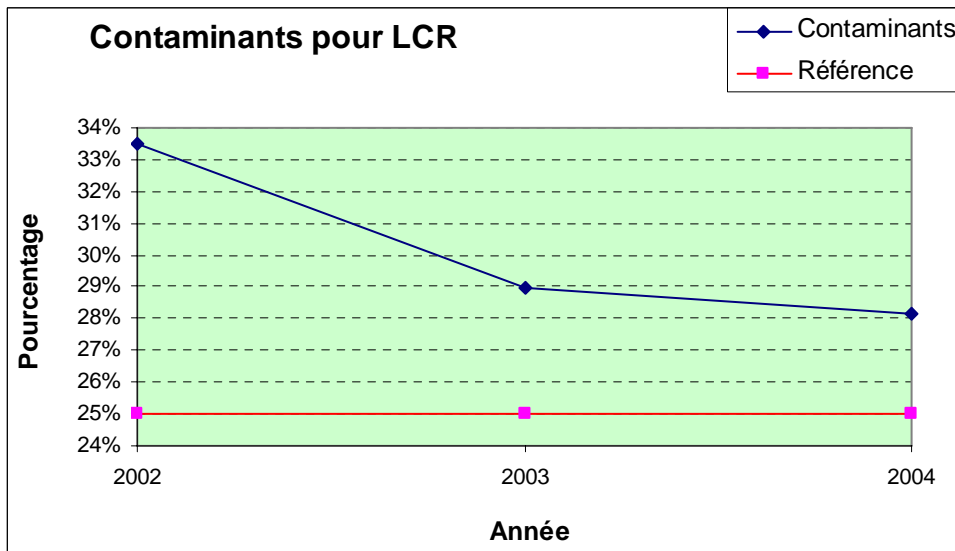


Figure 24 : Contaminants pour LCR

**4.3.4. Résultats pour les autres liquides biologiques****Tableau XXXIV : Résultats pour les autres liquides biologiques**

DESIGNATIONS	ANNEES			Total	%
	2002	2003	2004		
Résultats négatifs	11	15	21	47	30,92%
Nature des germes :					
<i>STAPHYLOCOCCUS aureus</i>	15	12	12	39	25,66%
<i>STREPTOCOCCUS pneumoniae</i>	02	09	04	15	9,87%
<i>HAEMOPHILUS influenzae</i> type b	01	02	03	06	3,95%
<i>ESCHERICHIA coli</i>	00	03	03	06	3,95%
<i>PROTEUS mirabilis</i>	01	02	01	04	2,63%
<i>SALMONELLA spp</i>	03	01	00	04	2,63%
<i>KLEBSIELLA pneumoniae</i>	01	01	00	02	1,32%
<i>SERRATIA fonticola</i>	01	00	01	02	1,32%
<i>ENTEROCOCCUS spp</i>	00	01	00	01	0,66%
<i>CITROBACTER freundii</i>	01	00	00	01	0,66%
<i>ACINETOBACTER calvocar</i>	00	00	01	01	0,66%
<i>STREPTOCOCCUS</i> groupe A	01	00	00	01	0,66%
<i>KLEBSIELLA oxytoca</i>	01	00	00	01	0,66%
<i>PSEUDOMONAS aeruginosa</i>	00	00	01	01	0,66%
<i>PSEUDOMONAS spp</i>	01	00	00	01	0,66%
<i>SERRATIA odorifera</i>	00	00	01	01	0,66%
<i>ENTEROBACTER cloacae</i>	01	00	00	01	0,66%
<i>CITROBACTER youngae</i>	01	00	00	01	0,66%
<i>ENTEROBACTER aerogenes</i>	01	00	00	01	0,66%
Contaminants : (Valeur)	5	8	3		
Staphylococcus non aureus (SNA)	03	08	03	14	9,21%
Bacilles Gram Positif (BGP)	02	00	00	02	1,32%
Levures	00	00	00	00	0,00%
Autres	00	00	00	00	0,00%
TOTAL	47	54	51	152	100%

– Nombre de cultures stériles finales : 47 soit 30,92% ;

– Le germe majoritaire est *STAPHYLOCOCCUS aureus* avec 39 cas soit 25,66%, suivi de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* ;

NB : Ici on ne calculera pas le taux de contaminants car ces genres de prélèvements peuvent arrivés étant déjà contaminés.

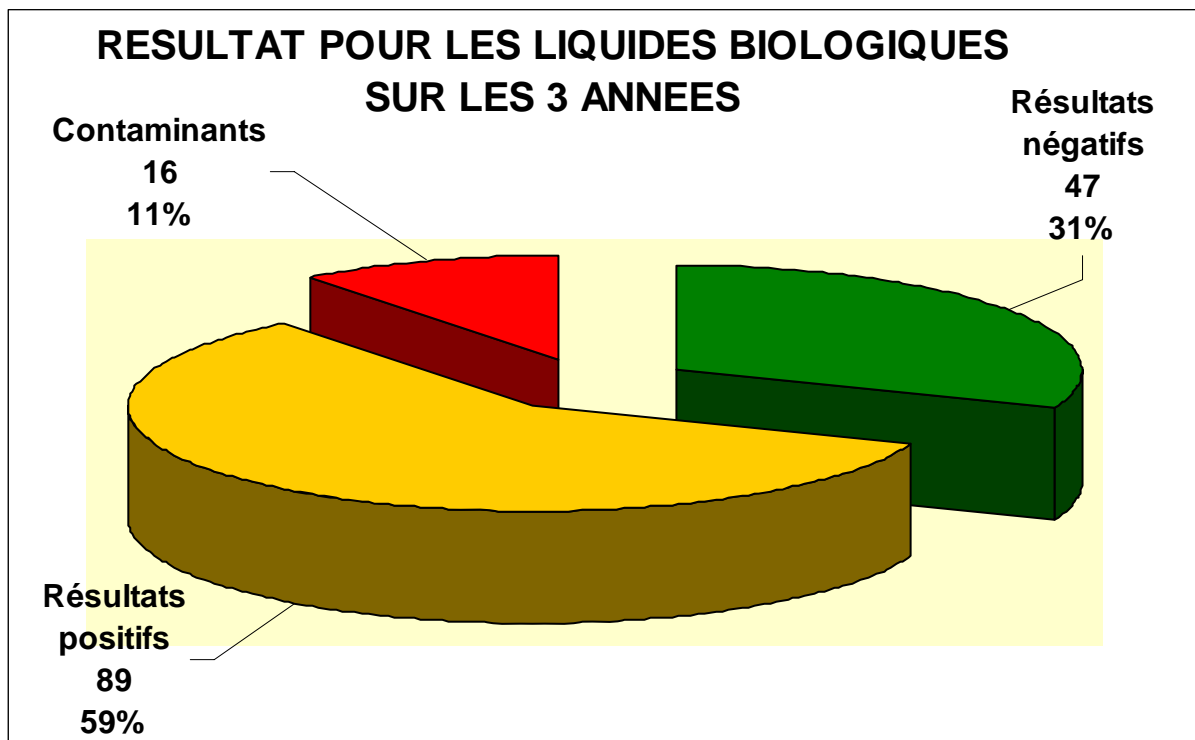


Figure 25 : Résultat pour les liquides biologiques sur les 3 années

**4.3.5. Souches cliniques isolées ayant fait l'objet de contrôle à l'extérieur****Tableau XXXV : Souches cliniques isolées ayant fait l'objet de contrôle à l'extérieur (CVD Baltimore- USA)**

Nature des germes	ENVOIS EFFECTUES								Total
	1 ^{er} envoi	2 ^{ème} envoi	3 ^{ème} envoi	4 ^{ème} envoi	5 ^{ème} envoi	6 ^{ème} envoi	7 ^{ème} envoi	8 ^{ème} envoi	
<i>STREPTOCOCCUS pneumoniae</i>	7	35	85	46	28	92	0	0	293
<i>HAEMOPHILUS influenzae</i> type b	2	10	0	0	0	0	0	226	238
<i>STREPTOCOCCUS</i> groupe A	0	5	0	0	9	0	84	30	181
<i>SALMONELLA typhi</i>	9	10	0	0	9	0	0	0	45
<i>STREPTOCOCCUS</i> bêta hémolytique	4	0	7	0	0	0	6	14	24
<i>SALMONELLA spp</i>	6	0	0	0	0	0	0	0	15
<i>SALMONELLA paratyphi</i> B	0	0	0	0	0	0	0	0	9
<i>NEISSERIA meningitidis</i> gr A	0	7	3	0	0	0	0	0	7
<i>STAPHYLOCOCCUS aureus</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	4
<i>ESCHERICHIA coli</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>NEISSERIA meningitidis</i> gr W135	0	3	0	0	0	0	0	0	3
<i>HAEMOPHILUS spp</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>MOREXELLA specie</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>SALMONELLA cholerae</i>	1	0	0	0	9	0	0	0	1
<i>KLEBSIELLA oxytoca</i>	1	0	0	0	9	0	0	0	1
Total	40	70	85	90	90	92	90	270	827

De son installation à nos jours, le laboratoire CVD de l'Hôpital Gabriel TOURE a effectué huit (8) envois de souches à Baltimore aux Etats-Unis.

STREPTOCOCCUS pneumoniae reste la souche envoyée la plus importante avec 293 cas suivie de *HAEMOPHILUS influenzae* type b. Les résultats de l'extérieur sont attendus.

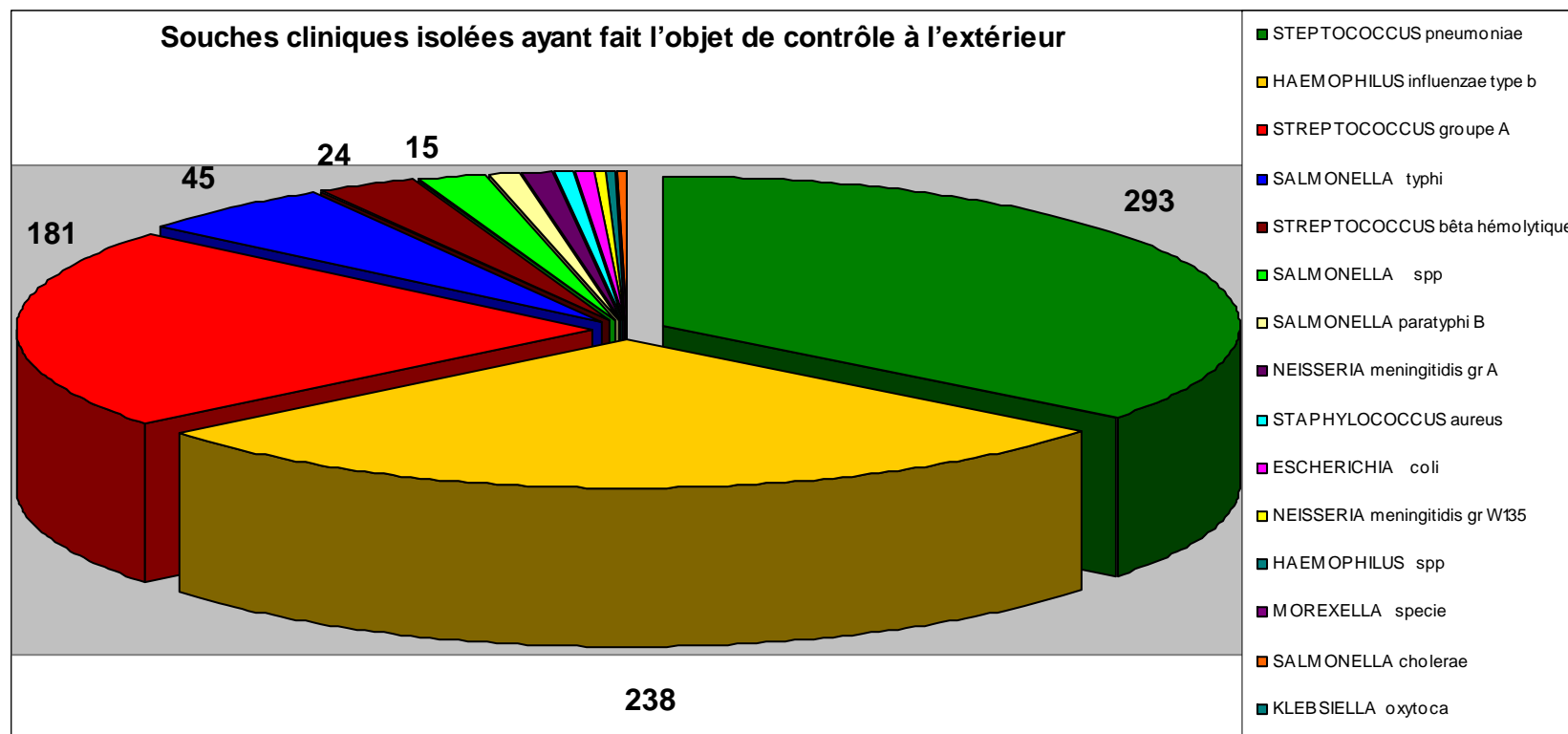


Figure 26 : Souches cliniques isolées ayant fait l'objet de contrôle à l'extérieur

COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS



5. COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS

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

5.1.L'ASPECT APPROVISIONNEMENT EN CONSOMMABLES ET REACTIFS DE LABORATOIRE :

C'est le pôle de la gestion administrative et technique qui se fait et au niveau du siège de CVD au CNAM sous la responsabilité d'un Gestionnaire du projet, et au niveau du laboratoire, le tout sous la direction du coordinateur un Professeur universitaire de recherche.

La gestion analytique s'est faite au niveau du laboratoire sous la responsabilité du biologiste. La démarche décrite permet d'avoir une vision plus globale des problèmes pour garantir au mieux la qualité des résultats. Notre démarche aborde les aspects techniques liés aux phases pré- analytique, à l'analyse et au post- analyse. ^[24]

5.2.LA SAISIE DES PRELEVEMENTS EST FAITE SUR DES SUPPORTS MANUELS ET INFORMATIQUES ET ASSURE :

- une bonne tenue des registres de laboratoire,
- des résultats délivrés aux cliniciens dans les meilleurs délais et
- une saisie informatique plus assurée, permettant une exploitation plus rapide et plus complète des donnés.

Les résultats sont fournis et disponibles à tout moment comme le montrent les cumulent de nos tableaux comparables aux travaux de **SAMAKE. M**, en 2004 sur « Pratique de l'hémoculture dans le laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE : Aspects méthodologiques. »^[20] et de **SAMAKE. T**, en 2004 sur « Pratique de l'examen cyto bactériologique du LCR dans le laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE : Aspects méthodologiques. »^[21]

Les activités de bactériologie ont surtout concerné les hémocultures, l'examen cyto bactériologique du LCR et d'autres liquides biologiques dont l'analyse serait susceptible d'étayer le diagnostic des maladies bactériennes invasives chez les enfants.



5.3.LES EXAMENS ONT PORTE SUR :

- l'hémoculture ; cet examen est systématiquement demandé chez tous les patients inclus dans le protocole. La technique mise en place est une hémoculture automatisée utilisant le Bactec 9050 de chez BECTON DICKINSON. Il s'agit là d'un élément important du Système de Traitement des Analyses Biologiques. Les flacons positifs sont traités conformément aux procédures décrites par le superviseur de bactériologie un Professeur universitaire de recherche du CVD Baltimore de l'Université de Maryland aux USA. ^[17]

- l'examen cyto bactériologique du LCR, est exécuté conformément à des procédures décrites dans les mêmes conditions. Ces procédures sont identiques à celle de l'OMS de la « technique de laboratoire pour diagnostic des méningites. » ^[22]

- d'autres liquides biologiques comme le liquide pleural, les pus etc, ont été prélevés et analysés en fonction du contexte clinique.

Les protocoles sont suivis dans chaque cas, les techniques décrites pour chaque niveau sont suivies jusqu'au résultats final tout en appliquant les bonnes pratiques de laboratoire. ^[18]

Les germes pathogènes isolés sont identifiés et leur profil antibiologique établi selon l'abaque de Janvier 2005 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie et /ou de son correspondant américain « The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ». ^[23]

5.4.LA SURVEILLANCE DES APPAREILS ET INSTRUMENTS

Les relevés métrologiques des appareils sont effectués quotidiennement, il s'avère que tous les appareils techniques fonctionnent normalement. Les appareils électriques ainsi que le réseau électrique de tout le laboratoire sont régulièrement suivis par une équipe technique du siège.

5.5.LE RESPECT DES PROCEDURES ET MODES OPERATOIRES NORMALISES

Chaque technicien travaillant dans le laboratoire dispose du manuel de procédure des techniques écrites par le superviseur du CVD- Baltimore, validées par le biologiste responsable du laboratoire. Le manuel a été approuvé après une période d'essai.



5.6. LA QUALITE DES RESULTATS

De Janvier 2005 à Mars 2006, les contrôles de qualité effectués ont donné les résultats suivants :

- quant à la coloration de Gram, les réactifs utilisés répondent aux normes de qualité.
- au niveau du test de catalase, le Peroxyde d'hydrogène à 3% testé sur les souches de *STAPHYLOCOCCUS aureus* et *STREPTOCOCCUS pyogenes* est de bonne qualité différenciant Streptocoques et Staphylocoques.
- en ce qui concerne le test de coagulase, le plasma de lapin lyophilisé est reconstitué juste pour emploi. Il est de bonne qualité, permettant de différencier *STAPHYLOCOCCUS aureus* des autres Staphylocoques.
- quant au test d'oxydase, le réactif est de bonne qualité, permettant de différencier *HAEMOPHILUS influenzae* de *ESCHERICHIA coli*.
- le disque de Bacitracine (A) dosé à 0,04 UI permet le test de sensibilité entre *STREPTOCOCCUS pyogenes* et *STREPTOCOCCUS pneumoniae*. Toute autre concentration est inappropriée.
- le disque d'Optochine (P) ou chlorhydrate d'éthyl- cupréine est de bonne qualité pour la différenciation de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* des autres Streptocoques
- le réactif de révélation et la galerie API 20 E sont bien conservés et répondent aux normes de qualité
- les disques de facteurs X, V et XV, sont de bonne qualité pour la différenciation de *HAEMOPHILUS influenzae* des autres Haemophilus.
- les tests effectués au niveau des disques pour l'antibiogramme montrent qu'ils sont eux aussi de bonne qualité.
- au niveau des géloses (Mac Conkey et gélose au sang de cheval) les résultats montrent qu'elles sont de bonne qualité.
- les résultats des contrôles métrologiques effectués au niveau des instruments et appareils, montrent qu'ils sont tous dans les normes indiquées.



Au cours de la période de Février 2002 à Décembre 2004 il a été effectué au total 5494 hémocultures, soit 65% ; 2807 LCR, soit 33% et 152 autres liquides biologiques (Liquide pleural, articulaire, sous cutanée, musculaire, péritonéal etc....), soit 2%.

- dans les Hémocultures, les germes les plus retrouvés restent *STREPTOCOCCUS pneumoniae* avec 293 cas soit 5,33%, suivis de *HAEMOPHILUS influenzae* type b 233 cas soit 4,24%.

Les taux de contaminants des hémocultures ont été de : 10% en 2002, 8% en 2003 et 7% en 2004 ; pour une valeur admise de 10%.

- dans le LCR les germes les plus retrouvés restent *HAEMOPHILUS influenzae* type b avec 214 cas soit 7,62%, suivis de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* 190 cas soit 6,77%.

Les taux de contaminants ont été de : 33% en 2002, 29% en 2003 et 28% en 2004 ; pour une valeur admise de 25%.

Ces constatations étaient déjà signalées dans les travaux de **KONATE. E**, en 2005 sur « Caractères bactériologiques et place de *HAEMOPHILUS influenzae* type b isolé au laboratoire CVD dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel TOURE »^[12] et de **MARIKO. R**, en 2005 sur « Caractères bactériologiques et place de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel TOURE »^[16]

Les premiers résultats obtenus de l'envoi des souches pour contrôle et études complémentaires notamment le serotypage des *STREPTOCOCCUS pneumoniae* sont satisfaisants. Le contrôle de qualité est certes coûteux mais indispensables pour le laboratoire.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS



6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Le contrôle de qualité est indispensable pour assurer la fiabilité des résultats. Les progrès des techniques et des instruments, les procédures d'auto-contrôle existant sur les analyseurs modernes sont importants comme il l'est sur notre automate d'hémoculture le Bactec 9050, mais le biologiste doit rester critique vis-à-vis des résultats obtenus, et pour les valider il a besoin d'indicateurs sûrs ; c'est l'assurance qualité des résultats. Tout cela se fait en suivant scrupuleusement des Modes Opératoires Normalisés, actualisés et bien disponibles au laboratoire et en application des dispositions de Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicales.^[25]

L'assurance qualité décrite dans ce travail a pour but de permettre au laboratoire la mise en place d'un certain nombre d'indicateurs comme les références de bonne marche des appareils : réfrigérateurs, congélateurs, appareil de Mac Farland etc, les résultats que les souches de référence permettent d'obtenir avec les milieux de culture bactériennes et les différents réactifs. C'est tout cela qui assure en permanence le maintien de la qualité des résultats et signaler immédiatement en temps réel toute anomalie ; c'est le contrôle de qualité.

La finalité de tout ce travail à notre niveau est de répondre aux exigences internationales de qualification d'un laboratoire de biologie clinique de référence.

Ce faisant, nous recommandons :

Au personnel du laboratoire de l'hôpital Gabriel TOURE

Assurer une démarche qualité dans leurs activités de tous les jours ;

Aux autorités de tutelle de l'hôpital Gabriel TOURE

- Assurer la formation continue du personnel du laboratoire.
- Construire un laboratoire de niveau hospitalo- universitaire et répondant aux normes.

Au Ministre chargé de la Santé

- Mettre en application le Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) dans tous les laboratoires.
- Renforcer la coopération scientifique et technique avec nos partenaires Américains du CVD Baltimore (Université de Maryland- USA) et d'autres partenaires scientifiques et techniques.

BIBLIOGRAPHIE



BIBLIOGRAPHIE

1. **ACAR J ; SOUSSY C J ; CARVALLO J D ; CHARDON H ; CHIDIAC C ; CHOUTET P ; COURVALIN P.** Abaque du comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie. Edition de Janvier 2005 ; p.31.
2. **BACTEC 9050 Manuel d'utilisation.** Numéro du document MA-0103. Révision : E Réf 445845. Septembre 2004.
3. **BERCHE. P, GAILLARD. J. L, SIMONET. M.** Les Bactéries des infections humaines. Médecine Science Flammarion 4, rue Casimir Delavigne 75006Paris 1988. p. 304.
4. **bioMérieux B. V.** Bactériologie Mars 2003. Réf. 247003.
5. **Bio technologie Internationale :** Maître de l'assurance de qualité en biologie médicale. Le courrier de l'ASSITEB : 5eme Rencontres Africaines de biologie Technique. Dakar septembre 2004.
6. **COURTOIS D ; MARTINE J ; RICOSSE J H ; ALBERT J P ; DARRACQ R ; DOURY J C ; GUELAIN J ; LECAMUS J L ; PICQ J J ; ROUX J.** "Techniques de laboratoire" les agrégés du Pharo - Marseille. Edition DGD. Diffusion Maloïne. p. 5 – 9.
7. **La démarche qualité dans le domaine de la santé.**
<http://www.qualite-hospitalisation-privee.asso.fr/glossaire.htm>
8. **Séminaire de Bamako, nov 1998 « Analyse de laboratoire essentielles et Assurance qualité »**
http://www.remed.org/html/fr_1998.html
9. **BIO QUALITE,** Avril 2006.
<http://www.bioqualite.org>
10. **Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale.**
http://www.sante.gouv.fr/info_pro/gba/guide.pdf
11. **Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA).**
http://www.e-sante.fr/francais/article_624_18.htm



12. **KONATE. E**, Caractères bactériologiques et place de *HAEMOPHILUS influenzae* type b isolé au laboratoire CVD dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel TOURE. Thèse Pharm, Bamako 2004 – 2005. N° 64.
13. **LECLERC H, IZARD D., HUSSON M. O., WATTRE P., JAKUBCZAK E.** Microbiologie générale. 2e édition - Paris, 1983. p. 199, 202
14. **LE MINOR L.** Les Salmonelles. In : **LE MINOR L.** Bactériologie médicale Paris : Flammarion, 1992 :259-74.
15. **Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical.** Organisation Mondiale de la Santé. Edition 1990, p.12 – 18.
16. **MARIKO. R**, Caractères bactériologiques et place de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel TOURE. Thèse Pharm, Bamako 2004 – 2005. N° 63.
17. **MURRAY. P. R, HOLLICK. G. E, JERRIS. R. C, WILSON. M. L,** Journal of clinical Microbiology, June 1998, p.1601–1603f
18. **Procédures et Techniques de Laboratoire d'Analyses** (protocoles approuvés) CVD- Mali
19. **RENE CAQUET**, Guide pratique des examens de laboratoire. 6^{ème} Edition, Paris 1994.
20. **SAMAKE. M**, Pratique de l'hémoculture dans le laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE : Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, Bamako 2003 – 2004. N° 6.
21. **SAMAKE. T**, Pratique de l'examen cytbactériologique du LCR dans le laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE : Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, Bamako 2003 – 2004. N° 7.
22. **TANJA POPOVIC ; GLORIA AJELLO ; RICHARD FACKLAM.** Technique de laboratoires pour le diagnostic des méningites a *NEISSERIA meningitidis, STREPTOCOCCUS pneumoniae* et *HAEMOPHILUS influenzae*. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. Edition 2000.



23. **The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement. NCCLS document M 100-S 12 [ISBN 1-56238-000-0]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.

24. **VASSAULT A ; GRAFMEYER D ;** et les membres de la commission « Validation de techniques » de la Société Française de Biologie. Protocole de validation de techniques (document B, stade3).1986, 44, 686-745.

25. **WESTGARD J.O ; BARRAY P.L ; HUNT M.R** – A multi rule Shewart chart for quality control. 1981, 27, 493-501.

RESUME



FICHE SIGNALÉTIQUE

NOM : SANGARE

PRENOM : Samba Adama

TITRE DE LA THESE : Démarche qualité au laboratoire de Bactériologie CVD de l'hôpital Gabriel TOURE - Février 2002 à Mars 2006.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2005 – 2006

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako

PAYS D'ORIGINE : Mali

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

SECTEURS D'INTERET : Bactériologie, Santé Publique



RESUME

La Démarche Qualité au sein d'un Laboratoire est importante pour que l'acte de biologie médicale s'inscrive dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. Des contrôles de qualité sont exécutés quotidiennement donc au cours d'une étude portant sur les Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives chez les enfants reçus en consultation au CHU de Gabriel TOURE à Bamako au Mali.

L'étude prospective s'étend sur la période de 2002 à 2006 en cours et celle rétrospective s'étend de 2002 à 2004.

Nous avons effectué l'inventaire des outils de travail élaborés, nécessaire à une démarche qualité au laboratoire ; exécuté chaque technique de contrôle de qualité, procédé aux relevés métrologiques sur les appareils de laboratoire. Au cours de l'étude bactériologique des divers prélèvements la nature exacte des germes isolés a permis de faire leur profil antibiologique, d'en contrôler dans d'autres laboratoires à type de contrôle externe et pour des études de sérotypage.

Après avoir effectué nos contrôles de qualités internes, il apparaît que :

- le contrôle métrologique des instruments et les appareils sont dans les normes indiquées ;
- pour le contrôle des réactifs (catalase, oxydase, coagulase), les disques d'antibiotique, les disques d'Optochine de Bacitracine et les Facteurs des haemophilus sont bien conservés et répondent aux normes du contrôle de qualité. Les souches de référence utilisées pour tester les milieux de cultures bactériennes, sont de bonne qualité.

Au cours de la période de février 2002 à Décembre 2004 il a été effectué 5494 hémocultures, soit 65% ; 2807 LCR, soit 33% et 152 autres liquides biologiques (Liquide pleural, articulaire, sous cutanée, musculaire, péritonéal etc...), soit 2%.

Dans les Hémocultures, les germes les plus retrouvés restent *STREPTOCOCCUS pneumoniae* avec 293 cas soit 5,33%, suivis de *HAEMOPHILUS influenzae* type b 233 cas soit 4,24%.

Les taux de contaminants des hémocultures ont été de : 10% en 2002, 8% en 2003 et 7% en 2004 ; pour une valeur admise de 10%.

Dans le LCR les germes les plus retrouvés restent *HAEMOPHILUS influenzae* type b avec 214 cas soit 7,62%, suivis de *STREPTOCOCCUS pneumoniae* 190 cas soit 6,77%.

Les taux de contaminants des LCR ont été de : 33% en 2002, 29% en 2003 et 28% en 2004 ; pour une valeur admise de 25%.

Les tests de contrôle effectués régulièrement et la saisie des données du laboratoire sur un support informatique performant et maîtrisé sont les gages d'une démarche qualité.

=====
MOTS CLES : Contrôle de qualité, Hémocultures, Liquide Céphalo- Rachidien (LCR), GDH (Global Digital Health), Bactériologie CVD.



ABSTRACT

The Gait Quality inside a Laboratory is important so that the act of medical biology appears in a preventive, diagnostic, prognostic and therapeutic gait. Controls of quality are executed daily therefore during a survey carrying on the Suspicions of infections Bacterial Invasive at the children received in consultation to a CHU of Gabriel TOURE in Bamako in Mali.

The prospective survey spreads in progress on the period of 2002 to 2006 and the one retrospective spreads from 2002 to 2004.

We did the inventory of the elaborate work tools, necessary to a gait quality to the laboratory; executed every method of quality control, conducted the summaries metrological on the devices of laboratory. During the bacteriological survey of the various withdrawals the exact nature of the isolated germs permitted to make their profile antibiotic, to control some in other laboratories to type of external control and for studies of serotype action.

After having done our controls of internal qualities, it appears that:

- the control metrological of the instruments and the devices are in the indicated norms;

- for the control of the reagents (catalase, oxydase, coagulase), the disks of antibiotic, the disks of Optochin of Bacitracin and the Factors of the haemophilus are kept well and answer the norms of the quality control. The stumps of reference used to test the surroundings of bacterial cultures, are of good quality.

During the period of February 2002 to December 2004 it has been done 5494 hemocultures (65%), 2807 CSF (33%) and 152 other biologic liquids (pleural, articular Liquid, under cutaneous, muscular, peritoneal etc....) 2%.

In the Hemocultures, the germs the more recovered remain *STREPTOCOCCUS pneumoniae* with 293 cases (5,33%) follow-ups of *HAEMOPHILUS influenzae* marks b 233 cases (4,24%).

The rates of contaminating of the hemocultures were of: 10% in 2002, 8% in 2003 and 7% in 2004; for a value admitted of 10%.

In the CSF the germs the more recovered remain *HAEMOPHILUS influenzae* marks b with 214 cases (7,62%) follow-ups of *STREPTOCOCCUS pneumoniae* 190 cases(6,77%).

The rates of contaminating of the CSF were of: 33% in 2002, 29% in 2003 and 28% in 2004; for a value admitted of 25%.

The tests of control done regularly and the seizure of the data of the laboratory on an effective computer support and mastered are the pledges of a gait quality.

=====
KEY WORDS: Control of quality, Hemocultures, Cerebral Spinal Fluid (CSF), GDH (Global Digital Health), Bacteriology CVD.

ANNEXES



ANNEXES

Fiches techniques de travail et de résultats

MINISTERE DE LA SANTE

Secrétariat Général

CNAM

CVD-MALI

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple- Un But -Une Foi

SITE: HOPITAL GABRIEL TOURE

RESULTAT PRELIMINAIRE LCR

Nom : _____ Prénoms : _____ N⁰ Dossier : _____

Sexe : _____ Age : _____ Résidence : _____

Type de prélèvement : _____ Aspect _____

Date de prélèvement : /__ / __ / __ / Leucocytes _____ /mm³

Date du résultat : /__ / __ / __ / Hématies _____ /mm³

Protéines _____

Glucose _____

Tests d'Agglutination.

____ Ménningocoque A ____ Ménningocoque W135 ____ Ménningocoque C

____ H. influenzae b ____ Pneumocoque ____ Ménningocoque B

____ Absence d'agglutination

Résultat de la coloration de Gram sur le LCR direct.

__ Cocci Gram + en grappes. __ Cocci Gram + en Pairs et Chaînettes

__ Bacilles Gram + __ Cocci Gram -

__ Bacilles Gram - __ Levures

__ Résultat négatif

__ Bacilles Gr - Semblables à des Entériques

__ Bacilles Gr - Semblables à des Haemophilus

Signature _____



MINISTRE DE LA SANTE

REPUBLIQUE DU MALI

Secrétariat Général

Un Peuple- Un But -

Une Foi

CNAM

CVD-MALI

SITE: HOPITAL GABRIEL TOURE

Laboratoire d'Analyses Médicales

Nom :

Prénoms :

N⁰ Dossier :

Résultat d'Examen Cytobactériologique de LCR

A. Aspect du prélèvement.

Clair : /___/

Trouble : /___/

Hématique : /___/

Autre : /___/

B. Examens préliminaires.

1. Examen cytologique.

Leucocytes (GB) = /mm³

Hématies (GR) = /mm³

2. Tests d'Agglutination.

Méningocoque A /___/

Haemophilus influenzae b /___/

Méningocoque B /___/

Pneumocoque /___/

Méningocoque C /___/

Méningocoque W135 /___/

Absence d'agglutination /___/

3. Résultat de la coloration de Gram sur le LCR direct.

___ Cocci Gram + en grappes.

___ Cocci Gram + en Pairs et Chaînettes

___ Bacilles Gram +

___ Cocci Gram -

___ Bacilles Gram -

___ Levures

___ Résultat négatif

___ Bacilles Gr - Semblables à des Entériques

___ Bacilles Gr - Semblables à des Haemophilus

C. Cultures.

Conclusion.

D. Antibiogramme.

(ci-joint Résultat de l'Antibiogramme).

Bamako, le

200_

Le Chef du Laboratoire



RESULTAT ANTIBIOGRAMME

NOM :

PRENOMS :

N⁰ Dossier :

Date de prélèvement :

N⁰ Bactec :

Germe (s) identifié (s) :

Antibiotiques	Diamètre d'inhibition	CMI	Résultats (S I R)	Observation
<u>Béta-lactamines</u>				
Ampicilline				
Pénicilline				
Oxacilline				
Autres				
<u>Céphalosporines</u>				
Céftriaxone				
Autres				
<u>Aminosides</u>				
Gentamycine				
Autres				
<u>Sulfamides</u>				
Cotrimoxazole				
Autres				
<u>Quinolones</u>				
Ciprofloxacine				
Autres				
<u>Macrolides</u>				
Erytromycine				
Autres				
<u>Phénicolés</u>				
Chloramphénicol				
Autres				

NB : L'usage des antibiotiques par voie orale à base de **Cotrimoxazole** et de **Ciprofloxacine**, est inapproprié chez les enfants souffrant d'infection bactérienne invasive sévère.

Bamako, le 200_

Le Chef du Laboratoire

SERMENT DE GALIEN

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