ANDRIANARIVELO Andry Maharo

DESCRIPTION NORMATIVE D'UN LABORATOIRE PUBLIC DE BACTERIOLOGIE A MADAGASCAR : EXEMPLE DU CHU D'ANTANANARIVO

DIPLOME D'ETUDES DE FORMATIONS SPECIALISEES (DEFS) DE BIOLOGIE MEDICALE

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

FACULTE DE MEDECINE

ANNEE : 2007 **N° 143**

DESCRIPTION NORMATIVE D'UN LABORATOIRE PUBLIC DE BACTERIOLOGIE A MADAGASCAR : EXEMPLE DU CHU D'ANTANANARIVO

MEMOIRE

Présenté le 16 janvier 2008
à Antananarivo

Par

le Docteur ANDRIANARIVELO Andry Maharo
Né le 14 Juillet 1975 à Itaosy

Pour

L'obtention de Diplôme d'Etude de Formation Spécialisé (DEFS)
de BIOLOGIE MEDICALE

Membres du jury

Président : Professeur RASAMINDRAKOTROKA Andry

Juges : Professeur RAKOTOARIMANANA Denis Roland

Professeur RANDRIANJAFISAMINDRAKOTROKA Nantenaina Soa

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DE MEDECINE
Année Universitaire 2006-2007

I- DIRECTION

A. DOYEN

M. RAJAONARIVELO Paul

B. VICE-DOYENS

- Troisième Cycle Long et Formation Continue	M. RAJAONA Hyacinthe
- Scolarité (1er et 2nd cycles)	M. RAKOTOARIMANANA Denis Roland
- Ressources Humaines et Patrimoine	M. RAMAKAVELO Maurice Philippe
- Thèses, Mémoires, Recherche, Agrégation, Titularisation	M. RABENANTOANDRO Rakotomanantsoa
- Appui à la Pédagogie et Stages Hospitaliers	M. RANJALAHY RASOLOFOMANANA Justin
- Troisième Cycle Court (Stage interné et Examens de Clinique)	M. RANDRIANJAFISAMINDRAKOTROKA Nantenaina Soa
- Technologies de l'Information, de la Communication et de la Télémédecine	M. RAPELANORO RABENJA Fahafahantsoa

C. SECRETAIRE PRINCIPAL

Mme RASOARIMANALINARIVO Sahondra H.

II. PRESIDENT DU CONSEIL D'ETABLISSEMENT

M. RAKOTOVAO Joseph Dieudonné

III. CHEFS DE DEPARTEMENT

- Biologie	M. RASAMINDRAKOTROKA Andry
- Chirurgie	M. ANDRIMAMONJY Clément
- Médecine	M. RAFARAMINO Florine

- Mère et Enfant	Mme. RAVELOMANANA RAZAFIARIVAO Noëline
- Santé Publique	M. RANJALAHY RASOLOFOMANANA Justin
- Sciences Fondamentales et mixtes	M. RANDRIANJAFISAMINDRAKOTROKA Nantenaina Soa
- Tête et cou	Mme. ANDRIANTSOA RASOAVELONORO Violette

IV. PRESIDENT DU CONSEIL SCIENTIFIQUE

M. RAJAONARIVELO Paul

V. COLLEGE DES ENSEIGNANTS

A- PRESIDENT

Pr. RAPELANORO RABENJA Fahafahantsoa

B- ENSEIGNANTS PERMANENTS

1) PROFESSEURS TITULAIRES D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE

DEPARTEMENT BIOLOGIE

- Immunologie	Pr. RASAMINDRAKOTROKA Andry

DEPARTEMENT MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

- Endocrinologie et métabolisme	Pr. RAMAHANDRIDONA Georges
- Néphrologie	Pr. RAJAONARIVELO Paul Pr. RABENANTOANDRO Rakotomanantsoa
- Pneumologie-Phtisiologie	Pr. ANDRIANARISOA Ange

DEPARTEMENT MERE ET ENFANT

- Pédiatrie néonatale	Pr. RANDRIANASOLO Olivier
- Pédiatrie	Pr . RAVELOMANANA RAZAFIARIVAO Noëline

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Administration et Gestion Sanitaire	Pr. RATSIMBAZAFIMAHEFA RAHANTALALAO Henriette
- Education pour la Santé	Pr. ANDRIAMANALINA Nirina
- Médecine du Travail	Pr. RAHARIJAONA Vincent Marie
- Santé Communautaire	Pr. RANDRIANARIMANANA Dieudonné
- Santé Familiale	Pr. RANJALAHY RASOLOFOMANANA Justin
- Statistiques et Epidémiologie	Pr. RAKOTOMANGA Jean de Dieu Marie

DEPARTEMENT SCIENCES FONDAMENTALES ET MIXTES

- Anatomie Pathologique	Pr. GIZY Ratiambahoaka Daniel Pr. RANDRIANJAFISAMINDRAKOTROKA Nantenaina Soa
- Anesthésie-Réanimation	Pr. RANDRIAMIARANA Joël

DEPARTEMENT TETE ET COU

- Ophtalmologie	Pr. ANDRIANTSOA RASOAVELONORO Violette Pr. BERNARDIN Prisca
- ORL et Chirurgie Cervico-faciale	Pr. RABENANTOANDRO Casimir
- Stomatologie	Pr. RAKOTOVAO Joseph Dieudonné

2) PROFESSSEURS D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE

DEPARTEMENT BIOLOGIE

- Biochimie	Pr. RANAIVOHARISOA Lala

DEPARTEMENT MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

- Dermatologie	Pr. RAPELANORO RABENJA Fahafahantsoa
- Radiothérapie-Oncologie Médicale	Pr. RAFARAMINO RAZAKANDRAINA Florine
- Radiodiagnostic et Imagerie Médicale	Pr. AHMAD Ahmad

DEPARTEMENT MERE ET ENFANT

- Pédiatrie — Pr. RAOBIJAONA Solofoniaina Honoré

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Nutrition et Alimentation — Pr. ANDRIANASOLO Roger

DEPARTEMENT TETE ET COU

- Neuro-Chirurgie — Pr. ANDRIAMAMONJY Clément

3) MAITRES DE CONFÉRENCES

DEPARTEMENT MERE ET ENFANT

- Obstétrique — M. RAZAKAMANIRAKA Joseph

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Santé Publique — M. RANDRIAMANJAKA Jean Rémi

VI. ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

PROFESSEURS EMERITES

Pr. ANDRIAMANANTSARA Lambosoa
Pr. ANDRIAMBAO Damasy
Pr. ANDRIANAIVO Paul Armand
Pr. ANDRIANANDRASANA Arthur
Pr. RANDRIAMAMPANDRY
Pr. AUBRY Pierre
Pr. FIDISON Augustin
Pr. KAPISY Jules Flaubert
Pr. RABARIOELINA Lala
Pr. RABETALIANA Désiré
Pr. RADESA François de Sales
Pr. RAHAROLAHY Dhels
Pr. RAJAONA Hyacinthe
Pr. RAKOTOARIMANANA Denis Roland
Pr. RAKOTOMANGA Samuel
Pr. RAKOTOMANGA Robert
Pr. RAKOTO-RATSIMAMANGA S.U
Pr. RAKOTOZAFY Georges
Pr. RAMAKAVELO Maurice Philippe
Pr. RAMONJA Jean Marie
Pr. RANDRIAMAMPANDRY
Pr. RANDRIAMBOLOLONA Aimée
Pr. RANDRIANARIVO
Pr. RANDRIARIMANGA Ratsiantery Honoré Blaise
Pr. RASOLOFONDRAIBE Aimé
Pr. RATOVO Fortunat
Pr. RATSIVALAKA Razafy
Pr. RAZANAMPARANY Marcel
Pr. SCHAFFNERRAZAFINDRAHABA Marthe
Pr. ZAFY Albert

VII. IN MEMORIAM

Pr. RAJAONERA Richard
Pr. RAMAHANDRIARIVELO Johnson
Pr. RAJAONERA Fréderic
Pr. ANDRIAMASOMANANA Velson
Pr. RAKOTOSON Lucette
Pr. ANDRIANJATOVO RARISOA Jeannette
Dr. RAMAROKOTO Razafindramboa
Pr. RAKOTOBE Alfred
Pr. ANDRIAMIANDRA Aristide
Dr. RAKOTONANAHARY
Pr. ANDRIANTSEHENO Raphaël
Pr. RANDRIAMBOLOLONA Robin
Pr. RAMANANIRINA Clarisse
Pr. RALANTOARITSIMBA Zhouder
Pr. RANIVOALISON Denys
Pr. RAKOTOVAO Rivo Andriamiadana
Pr. RAVELOJAONA Hubert
Pr. ANDRIAMAMPIHANTONA Emmanuel
Pr. RANDRIANONIMANDIMBY Jérôme
Pr. RAKOTONIAINA Patrice
Pr. RAKOTO-RATSIMAMANGA Albert
Pr. RANDRIANARISOLO Raymond
Dr. RABEDASY Henri
Pr. MAHAZOASY Ernest
Pr. RATSIFANDRIHAMANANA Bernard
Pr. RAZAFINTSALAMA Charles
Pr. RANAIVOARISON Milson Jérôme
Pr. RASOLONJATOVO Andriananja Pierre
Pr. MANAMBELONA Justin
Pr. RAZAKASOA Armand Emile
Pr. RAMIALIHARISOA Angeline
Pr. RAKOTOBE Pascal
Pr. Ranaivozanany Andrianady

VIII. ADMINISTRATION

CHEFS DE SERVICES

ADMINISTRATION ET FINANCES	M. RANDRIARIMANGA Henri
APPUI A LA RECHERCHE ET FORMATION CONTINUE	M. RAZAFINDRAKOTO Willy Robin
RELATIONS AVEC LES INSTITUTIONS	M. RAMARISON Elysée
RESSOURCES HUMAINES	Mme RAKOTOARIVELO Harimalala F.
SCOLARITE ET APPUI A LA PEDAGOGIE	Mme SOLOFOSAONA Sahondranirina
TROISIEME CYCLE LONG ET FORMATION CONTINUE	M. RANDRIANJAFIARIMANANA Charles Bruno

DEDICACES

DEDICACES

A notre seigneur Jésus Christ

« Ne te l'ai-je pas prescrit : sois fort et courageux ? Ne tremble pas, ne t'effraie pas, car le Seigneur ton Dieu, sera avec toi partout où tu iras**. »**

Josué, 1 :9

A mes parents,

Cette œuvre est le signe de vos efforts, de vos sacrifices, de votre délicieux amour

Mon amour filial

A mon frère Lanto et sa famille,

Ma victoire est la votre

A Volatiana,

Ton amour, ton aide, ton soutien, ta compréhension et tes encouragements me vont droit au coeur

Mes sincères remerciements, ma victoire est la tienne

A Docteur Christian Rafalimanana,

Pour votre aide, votre soutien et vos conseils

Tous mes remerciements

A toute la famille,

A mes amis,

C'est grâce à votre aide que je suis arrivé à atteindre ce but

« Que Dieu vous protège et vous bénisse »

A notre Maître et président de mémoire

Monsieur le Docteur RASAMINDRAKOTROKA Andry

Professeur Titulaire d'Enseignement Supérieur et de Recherches en Immunologie à la Faculté de Médecine d'Antananarivo

Directeur pédagogique du département Biologie Médicale

Vous étiez toujours là pour nous soutenir et nous faire profiter de vos conseils, vos connaissances, votre expérience

Nous vous exprimons notre profonde reconnaissance pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce mémoire.

A nos Maîtres et honorables juges de mémoire

Monsieur le Docteur RAKOTOARIMANANA Denis Roland

Professeur Emérite d'Enseignement et de Recherche en Pédiatrie et Génétique Médicale à la Faculté de Médecine d'Antananarivo

Monsieur le Docteur RANDRIANJAFISAMINDRAKOTROKA Nantenaina Soa

Professeur Titulaire d'Enseignement Supérieur et de Recherches en Anatomo-pathologie, Cytologie, Histologie et Embryologie

Chef de département laboratoire

Vous nous avez fait le grand honneur de siéger parmi les membres du jury de ce mémoire

Veuillez recevoir l'expression de notre respectueuse admiration et nos vifs remerciements

A notre Maître et Doyen de la Faculté de Médecine d'Antananarivo

Monsieur le professeur RAJAONARIVELO Paul

Toutes nos respectueuses reconnaissances

A tous nos Maîtres et Enseignants de la Faculté de Médecine d'Antananarivo

Tous nos reconnaissances et gratitudes

A tout le personnel administratif de la Faculté de Médecine,

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire

Nos vifs remerciements

SOMMAIRE

SOMMAIRE

TITRES	PAGES
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : CONSIDERATIONS GENERALES	2
I-LA PRESCRIPTION	2
II-PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS BIOLGIQUES	2
III- IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS	4
IV-LE DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE	6
V- RESULTATS	11
VI-LA SECURITE AU LABORATOIRE	14
VII- LA SURVEILLANCE EPIDEMOLOGIQUE	20
DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE	25
I- OBJECTIFS DE NOTRE ETUDE	25
II- CADRE D'ETUDE	25
III- METHODE	25
IV- RESULTATS	26

1- ORGANISATION GENERALE DU LABORATOIRE 26

2- EQUIPEMENT 27

3- REACTIFS 28

4- PHASE PREANALYTIQUE 29

5- PHASE ANALYTIQUE 31

6- PHASE POSTANALYTIQUE 32

7- HYGIENE – SECURITE 33

TROISIEME PARTIE:

COMMENTAIRE DISCUSSSION ET SUGGESTIONS 36

CONCLUSION 47

ANNEXE

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

CHU-JRA Antananarivo : centre hospitalier universitaire Joseph Ravoahangy Andrianavalona Antananarivo

UPFRM : Unité Paraclinique de Formation et de Recherche en Microbiologie

MAP : Madagascar Action Plan

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses

LCR : liquide céphalo-rachidien

CMI : concentration minimale inhibitrice

CA-SFM : Comite de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

SFM : Société Française de Microbiologie

S.I. : système international

NaOCl : d'hypochlorite de sodium

H2O2 : peroxyde d'hydrogène

FCV : frottis cervico-vaginal

BAAR : Bacille Acido-alcoolo-Résistant

OMS : organisation mondiale de la santé

ECBU : examen cytobactériologique des urines

HLM : hématie leucocyte minut

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau 1: Normes applicables aux différents niveaux de sécurité biologique	15
Tableau 2: Cycle de stérilisation à l'autoclave	19

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1: La CMI en milieu liquide	8
Figure 2: Courbe d'interprétation de l'antibiogramme	10

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe I

Annexe 2 : Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le domaine de la bactériologie médicale, la qualité de la prescription, de l'exécution et du transport du prélèvement conditionne celle du résultat. La prescription est le résultat d'une étape de réflexion qui place le prélèvement dans un cadre diagnostique et épidémiologique.

Cette phase pré-analytique, sur laquelle le biologiste n'a que peu d'emprise, conditionne les étapes ultérieures d'analyse, de validation et d'interprétation et donc la qualité de la réponse.

La rédaction de procédures d'aide à la décision facilite cette étape. Les renseignements administratifs et certaines données médicales doivent être fournies au biologiste, car ils permettent d'orienter la démarche analytique.

L'exécution du prélèvement et son transport doivent être maîtrisés. La diffusion d'un guide technique par le laboratoire d'analyse semble nécessaire.

Enfin, le dépistage et l'enregistrement des non conformités à la réception des prélèvements sont indispensables car elles peuvent contraindre le biologiste à modifier sa démarche. Les cliniciens doivent en être informés dans le cadre d'amélioration continue de la qualité. La mise en place d'un système d'assurance qualité n'est possible qu'avec la collaboration des différents intervenants: cliniciens, paramédicaux, biologistes.

Il nous a semblé intéressant d'étudier le fonctionnement du laboratoire de bactériologie du CHU-JRA Antananarivo.

Ce travail se propose comme objectif de tirer les meilleures méthodes afin d'améliorer la qualité du service fourni par le laboratoire.

PREMIERE PARTIE
CONSIDERATIONS GENERALES

CONSIDERATIONS GENERALES

I - LA PRESCRIPTION (1)

La prescription d'un examen biologique est un acte médical qui formalise le choix de l'analyse la mieux adaptée au but poursuivi. Elle résulte d'une réflexion intégrant d'une part le contexte épidémiologique, clinique et paraclinique, et d'autre part une connaissance précise de ce qui peut être attendu de l'examen. L'automatisme de prescription, qui repose souvent sur des habitudes personnelles plutôt que sur des protocoles établis, est à l'origine de demandes inadaptées responsables de retards diagnostiques et d'erreurs d'interprétation.

La prescription médicale doit être écrite sur une ordonnance. En ville, la rédaction est assurée par le prescripteur, mais dans un établissement de soins la situation est plus complexe. En effet, souvent orale, elle peut être diluée (internes, assistants, consultants) et suivie d'une cascade de retranscriptions manuscrites (dossier de soin, bon de demande) assurée par des personnels paramédicaux qui ne sont pas forcement présents au moment de la décision.

En situation d'urgence, l'acte de prélèvement suit immédiatement une prescription souvent orale dont la confirmation écrite ne se fait qu'a posteriori. II en résulte des risques de dysfonctionnements importants, pouvant avoir des implications cliniques graves.

C'est pourquoi, la prescription d'une analyse biologique doit toujours rester sous la responsabilité d'un médecin.

II - PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES :(1)(2)(3)

Avant d'effectuer un acte de prélèvement en vue d'une analyse bactériologique, le biologiste fournit au médecin prescripteur toutes les précisions et les recommandations utiles aux conditions de mise en oeuvre de l'analyse. Les échantillons doivent, dans toute la mesure du possible, être associés à une "fiche de suivi médical" comportant tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses, à l'interprétation des résultats et pour préciser la prescription.

Le prélèvement peut être effectué par le médecin prescripteur, par le biologiste ou par un personnel qualifié. Ces personnes ressources doivent être formées aux procédures de prélèvement du laboratoire, et informées des risques d'erreurs sur les

résultats d'analyses consécutives à la réalisation défectueuse du prélèvement et à la nécessité de préciser au biologiste responsable tout incident survenu au cours du prélèvement.

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

Le prélèvement en vue d'un examen bactériologique doit être réalisé stérilement et avec du matériel stérile à usage unique. Le récipient destiné à recevoir l'échantillon récipient doit être conçu pour éviter tout risque de contamination et de pollution. Les prélèvements suivants doivent être faits dans des récipients à large embouchure, bouchés à vis :

- les prélèvements de liquide de séreuses et en particulier de liquide céphalo-rachidien (LCR),
- les crachats,
- l'urine,
- les prélèvements de selles.

Les autres prélèvements peuvent être effectués, selon leur volume et surtout la consistance du produit pathologique, soit à la seringue, soit à l'écouvillon. Dans tous les cas, les bactéries sont plus faciles à isoler de quelques millilitres de produit pathologique prélevés à la seringue que d'un simple écouvillon qui va très rapidement se dessécher.

Il faut réduire au maximum le délai entre le moment où le prélèvement est fait et celui où il est examiné.

Enfin, les prélèvements envoyés au laboratoire doivent être :

- en quantité suffisante,
- représentatifs de la lésion,
- faits avant l'administration d'antibactériens.

III - IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS (1)(4)

1. Cas général

1.1. Flacons ou récipients primaires

L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci. L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne.

Il doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et l'heure du prélèvement.

Si la taille du tube ne permet pas l'apposition d'une étiquette comportant l'ensemble des renseignements sus-cités, ce tube étiqueté est placé dans un récipient individuel où toutes les indications ci-dessus sont mentionnées de façon à éviter toute erreur.

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

1.2. Flacons ou récipients secondaires :

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

1.3. 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 doivent fixer les conditions particulières de délai de transport, de température de conservation et d'intégrité de l'emballage des échantillons biologiques. 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 doivent être insérés dans une boîte étanche, tapissée 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.

L'étiquetage et la résistance des emballages doivent être conformes à la réglementation internationale en vigueur concernant le transport des matières dangereuses. Ces règles s'appliquent quels que soient l'origine des prélèvements et le mode de transports utilisé.

Si l'échantillon doit être transmis à un autre laboratoire, la "fiche de suivi médical" ou sa copie ou à défaut une fiche de renseignements établie par le biologiste doit être associée.

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

En cas d'une expédition à longue distance, le personnel du laboratoire doit expédier les matières infectieuses en respectant la réglementation applicable à leur transport. L'observation de ces règles permet:

- de réduire le risque de détérioration ou de fuite des colis et par voie de conséquence,
- de réduire l'exposition à une éventuelle infection,
- d'améliorer les conditions de livraison des colis.

2. Conservation des échantillons (1)

Les conditions de conservation des échantillons biologiques doivent être conformes 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 doit être respectée, en particulier pour les échantillons reconstitués à partir des substances lyophilisées, qui doivent porter la date et l'heure de reconstitution. Toutes les précautions doivent être prises pour éviter les phénomènes d'évaporation et de contamination. La congélation de fractions aliquotes obtenues après reconstitution d'échantillons lyophilisés engage la responsabilité du biologiste.

Pour les prélèvements des patients, avant exécution des analyses, si celles-ci sont différées, les échantillons et leurs fractions aliquotes doivent être conservés dans des conditions qui préservent leur qualité.

Après exécution des analyses, les échantillons peuvent être conservés pour permettre une comparaison ou une vérification ultérieure.

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

IV-LE DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE (2)

1- Le diagnostic microbiologique direct

Le diagnostic microbiologique direct (ou examen direct), fondamental en bactériologie, consiste en l'examen microscopique à l'état frais et après coloration d'un frottis du prélèvement. Il permet la mise en évidence d'une infection par la présence de nombreux leucocytes ; il renseigne sur la morphologie, la mobilité et le mode de groupement des bactéries.

2- Isolement de la bactérie

L'isolement consiste à mettre le prélèvement en culture, afin de multiplier les bactéries éventuellement présentes dans l'échantillon et ceci de manière à obtenir des colonies isolées pour permettre ultérieurement l'identification des différentes souches bactériennes isolées

- un choix des milieux de culture à ensemencer: milieux d'enrichissement (exemple: bouillon au tétrathionate), milieux d'isolement (exemples: gélose au sang, gélose ordinaire) ou milieux sélectifs (exemple: gélose Mac Conkey) ;
- une méthode d'ensemencement standardisée ayant pour objectif d'obtenir des colonies isolées ;
- une incubation dans des conditions favorables à la croissance des bactéries recherchées.

3- Identification de la bactérie

A moins que la bactérie ne soit à l'état pur (cas fréquent des cultures des liquides biologiques), seule la présence de colonies isolées sur milieu de culture solide permet, en pratique, de mener à bien le diagnostic bactériologique.

Le premier temps consiste en l'examen des milieux de culture ensemencés. Il est recommandé de faire systématiquement un premier examen après 15 à 18 heures d'incubation. Cette procédure se justifie par le fait que la plupart des cultures sont positives après ce délai et qu'il est important pour le clinicien et son malade d'avoir des résultats après 24 heures même si ces résultats sont négatifs.

Le deuxième temps consiste en l'identification proprement dite, qui s'effectue classiquement par l'analyse de différents caractères (biochimiques, enzymatiques, antigéniques) sur une culture pure ; ou par séquençage (biologie moléculaire) du 16S-rARN.

4-Tests de sensibilité aux antibiotiques

Ces tests permettent de détecter les résistances acquises bactériennes et d'aider ainsi le médecin praticien dans sa prescription.

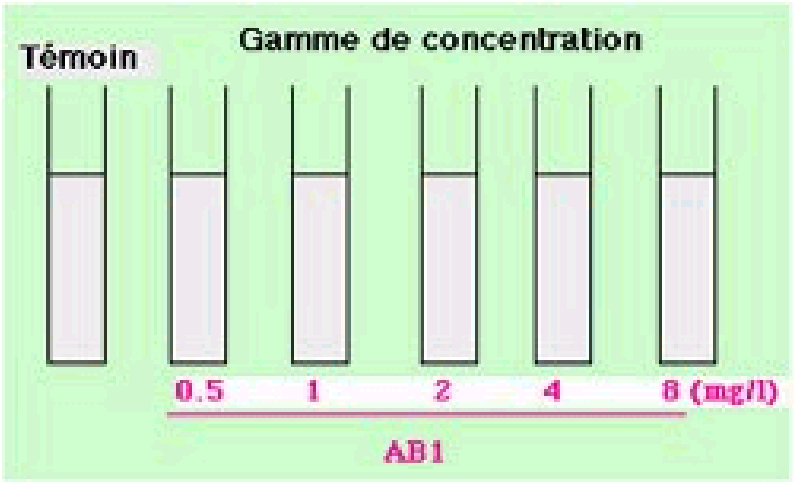
La sensibilité d'une bactérie est mesurée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique considéré. C'est la méthode de référence préconisée par l'OMS. La CMI est la plus petite quantité d'antibiotique capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu. La CMI d'un germe donné peut être mesurée par différents procédés de laboratoire :

- CMI en milieu liquide,
- CMI en milieu solide,
- Mesure de la CMI par diffusion de disque en gélose (antibiogramme).

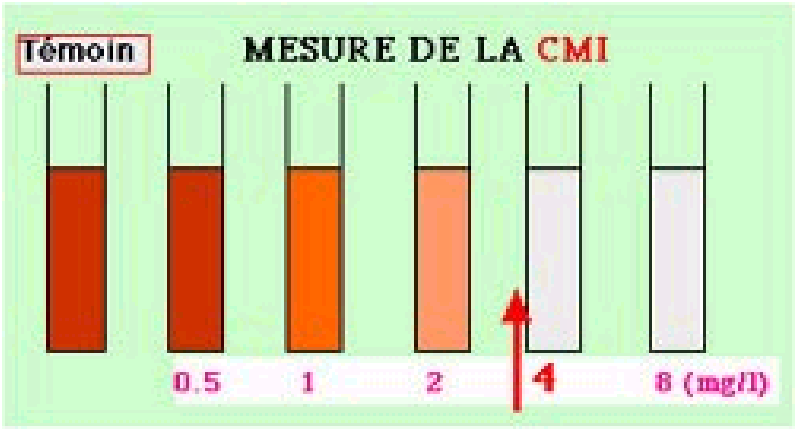
4.1- CMI en milieu liquide

Principe : on repartit dans une série de tubes à hémolyse un volume constant de bouillon nutritif, qu'on ensemence avec un inoculum fixe de bactéries environ 10^6 / ml. Puis on ajoute à ces tubes des quantités croissantes de l'antibiotique à étudier (0,25 – 0,5 – 1 – 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg / ml). Un tube témoin est laissé sans antibiotique. Après une nuit d'incubation à 37^o C les tubes sont soigneusement examinés.

Interprétation : le tube témoin sans antibiotique est uniformément trouble, le premier tube de la série demeurée limpide indique précisément la CMI (figure 1).



Gamme de concentration de l'antibiotique à tester



Mesure de la CMI pour la souche étudiée

Figure 1: La CMI en milieu liquide

4.2- CMI en milieu solide

Principe : on repartit aux mêmes doses croissantes d'antibiotiques dans des tubes de gélose en fusion et ramené à 40^{o} C environ. Puis chaque tube avec sa propre dose d'antibiotique, est coulé dans une boite de pétri où la gélose va se solidifier. Il est alors possible d'ensemencer sur cette série de boite plusieurs souches microbiennes différentes sous la forme de stries parallèles.

Interprétation : la CMI sera donnée par la première des concentrations d'antibiotique qui supprime sur la gélose toute culture apparente.

La CMI est comparée aux *concentrations critiques* qui permettent de classer les souches, pour l'espèce bactérienne étudiée et l'antibiotique testé, dans la catégorie clinique : *sensible, résistant ou intermédiaire.*

Ces concentrations critiques résultent de nombreuses études pharmacologiques, statistiques et cliniques. Elles reflètent pour chaque antibiotique, *les concentrations sanguines obtenues in vivo* par administration d'une dose utilisable en thérapeutique. Exemple : *Streptococcus pyogenes* : CMI critique de l'ampicilline ; 0,01 – 4 g / ml.

La comparaison de la CMI de l'antibiotique à ces concentrations critiques permet donc de classer la bactérie testée dans catégorie :

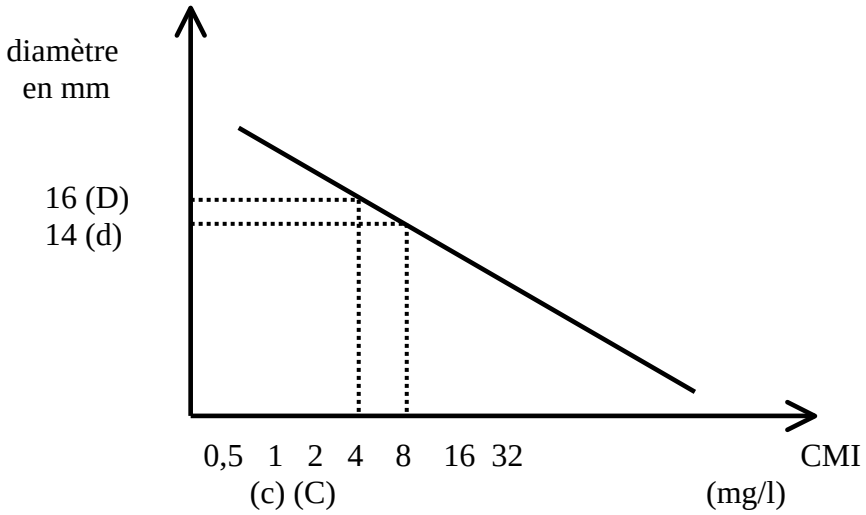
- **sensible** : la CMI est plus petite que la **concentration critique minimale** obtenue en thérapeutique. La souche peut être atteinte par traitement à dose habituelle par voie générale,
- **résistante** : la CMI est plus grande que la **concentration critique maximale** pouvant être, atteinte in vivo sans dépasser le seuil toxique. La souche ne pourra probablement pas être éliminée, quelles que soient les modalités du traitement,
- **intermédiaire** : la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques. La souche pourrait être atteinte par un traitement local, de fortes doses par voies générales.

4.3- Mesure de la CMI par diffusion de disque en gélose (antibiogramme) (5)

C'est la méthode utilisée en pratique courante, car c'est la plus aisée, bien que parfois d'interprétation difficile.

Principe : cette technique utilise des disques de papier buvard imprégnés d'une concentration donnée d'antibiotique déposé à la surface d'une gélose spécifique (Mueller Hinton) coulée en boite de Pétri ensemencée d'une suspension (10^6 bactéries / ml) de la bactérie étudiée.

Interprétation : après une nuit à 37°C, il s'établit un gradient de concentration de l'antibiotique. L'interaction entre la bactérie et l'antibiotique s'exprime par une zone d'inhibition dont le diamètre est une expression indirecte de la CMI. Grâce à des études comparatives portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces bactériennes différentes, des droites de régression liant pour un antibiotique donné les CMI aux diamètres d'inhibition correspondants ont été tracées.



c : concentration critique basse D et d : diamètres d'inhibition

C : concentration critique haute

Figure 2: Courbe d'interprétation de l'antibiogramme

Elle servira au médecin traitant soit :

- à choisir un antibiotique pour traiter une infection donnée,
- à rectifier un traitement de première intention inadapté.

La liste des antibiotiques testés au laboratoire est choisie en fonction du germe et du site infectieux.

Les résultats d'un antibiogramme sont très variables et d'interprétation difficile, il faut prendre en considérations toutes les conditions entreprises par les patients (exemple: antibiothérapie préalable).

4.4- Lecture interprétative

II faut se rappeler que les résultats bruts donnés par l'antibiogramme ne sont pas suffisants et doivent être complétés par une lecture interprétative.

Cette lecture interprétative de l'antibiogramme est fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance ; elle a pour but de transformer un résultat initialement catégorisé sensible selon les valeurs critiques en résultat intermédiaire ou résistant en raison d'un risque d'échec thérapeutique. En effet, certains mécanismes de résistance peuvent être faiblement exprimes *in vitro* pour certains antibiotiques, tout en étant à l'origine d'échecs thérapeutiques en clinique humaine. C'est pourquoi, dans certains cas, des méthodes complémentaires doivent être mises en oeuvre pour objectiver ces

mécanismes de résistance : recherche de la résistance à la méticilline chez les staphylocoques, test de synergie entre les céphalosporines de 3ème génération et l'acide clavulanique pour le dépistage des bétalactamases à spectre étendu chez les entérobactéries, recherche d'une bétalactamase faiblement exprimée chez *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* ou *Branhamella catarrhalis* par un test spécifique...

De nombreux systèmes automatisés d'antibiogramme intègrent des règles de lecture interprétative, reprenant les règles édictées par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM), parfois complétées de règles plus spécifiques à chaque système.

Tout laboratoire effectuant des antibiogrammes doit impérativement valider la qualité de sa méthodologie par la pratique hebdomadaire de contrôles de qualité interne utilisant des souches de référence, et par la participation à des contrô1es de qualité externes. Le contrôle national de qualité, obligatoire pour tous les laboratoires, peut utilement être complété par les contrôles de qualité et les formations organisées par les réseaux de surveillance.

V- RESULTATS (1)

1-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.

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

La validation biologique doit s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour le même patient à des temps différents, compte tenu, le cas échéant, des variations de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs.

Le recours à un système d'aide à la validation ne décharge pas le biologiste de sa responsabilité en matière de validation biologique pour chaque compte rendu.

2-Expression des résultats et comptes rendus d'analyses

2.1- Expression des résultats :

L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées.

La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionnée(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige.

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

2.2- Comptes rendus et signature :

Les comptes rendus d'analyses doivent figurer sur un papier à en-tête du laboratoire comportant les mentions fixées réglementairement et être signés par le biologiste.

Les comptes rendus ne peuvent être communiqués qu'après les opérations de validation. Toutefois, pour les patients hospitalisés et dans le cas des examens demandés en urgence, des résultats partiels peuvent être transmis dans des conditions définies par le biologiste et sous sa responsabilité, avant la validation biologique de l'ensemble des résultats demandés. Ils doivent être confirmés dès que celle-ci aura été effectuée par un biologiste et le médecin traitant doit être informé de cette particularité.

Néanmoins, toute signature télématique doit être confirmée par un document comportant les résultats d'analyses certifiés par une signature manuscrite.

3- Transmission des résultats

3.1- Elle doit assurer le respect du secret professionnel.

Les résultats d'analyses sont remis au patient en main propre ou lui sont envoyés sous pli cacheté, à son nom et à l'adresse qu'il communique. Les résultats d'analyses peuvent également être transmis au médecin prescripteur du patient sauf opposition de ce dernier. Les résultats peuvent être remis à une tierce personne dûment mandatée par le patient. Lorsque le patient est hospitalisé, les résultats sont adressés au médecin prescripteur et peuvent être remis au patient à sa demande.

Le biologiste d'un établissement de santé doit pouvoir s'assurer que le dispositif mis en place pour l'acheminement des comptes rendus vers les unités de soins répond aux critères de confidentialité et de conformité établis en coordination avec les cliniciens et l'équipe de direction.

Si le médecin prescripteur peut consulter le serveur du laboratoire ou un serveur destiné à acheminer les résultats du laboratoire, ceux-ci doivent être conçus pour garder la trace de la consultation.

Si les résultats sont transmis par un procédé télématique à un autre laboratoire ou au médecin prescripteur, le biologiste doit utiliser un système de transmission fiable qui garantit la conformité des résultats transmis et le respect du secret professionnel. Le système de réception des comptes rendu d'analyses doit respecter la confidentialité des données médicales. Les résultats sont confidentiels et ne doivent en aucun cas parvenir dans un lieu accessible au public.

S'ils sont adressés dans une salle d'opération ou dans une salle de réanimation, ils peuvent être transmis en flux continu de façon à être accessibles directement aux chirurgiens, anesthésistes et réanimateurs.

S'ils sont adressés dans un service d'hospitalisation ou de consultation, le système ne doit permettre leur visualisation ou leur impression que sur demande du prescripteur, matérialisée par l'utilisation d'un code secret et d'un support matériel personnel.

Lorsque le résultat d'un examen biologique met en jeu le pronostic vital, le biologiste doit tout mettre en oeuvre pour joindre et avertir le médecin traitant ou l'équipe médicale dans les plus brefs délais.

3.2- Un résultat laissant présager un pronostic grave ou fatal ne doit être révélé qu'avec la plus grande circonspection. Le biologiste doit prendre contact dans les meilleurs délais avec le médecin prescripteur.

Si les résultats ne peuvent pas être communiqués au médecin prescripteur (demande du patient), le biologiste doit demander 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 des résultats avec d'autant plus de prudence et sensibilité que les résultats sont préoccupants. Tout résultat préoccupant, soit pour le patient soit au regard de la santé publique, 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 doit alors inciter le patient à consulter un médecin traitant le plus rapidement possible.

3.3- Les comptes rendus d'analyses effectués sur réquisition judiciaire ne peuvent être adressés qu'à l'autorité requérante dans des conditions garantissant la confidentialité.

3.4- 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.

3.5- Un biologiste ne peut pas répondre à une demande de renseignements faite par une compagnie d'assurance concernant une analyse, même si cette demande émane du médecin de la compagnie. Les résultats d'analyses destinés à des compagnies d'assurances ne peuvent être remis qu'au patient en main propre, lequel reste libre d'en faire l'usage qu'il désire.

VI-LA SECURITE AU LABORATOIRE (4)

1- Principes de la sûreté biologique en laboratoire

Divers événements survenus ces dernières années dans le monde mettent en lumière la nécessité de protéger les laboratoires et les matières qu'ils détiennent contre un certain nombre de périls susceptibles d'entraîner des dommages pour la population, le bétail, l'agriculture ou l'environnement. Avant de voir quels peuvent être les besoins des laboratoires en matière de sûreté biologique, il convient de définir clairement ce que l'on entend par *sécurité et sûreté biologique* et en quoi ces deux notions se distinguent.

La *sécurité biologique* consiste dans la mise en oeuvre d'un certain nombre de principes, de techniques et de pratiques de confinement visant à prévenir le risque accidentel d'exposition du personnel à des agents pathogènes ou à des toxines, ou encore de libération de telles substances.

La *sûreté biologique*, elle consiste dans la mise en place d'un certain nombre de mesures d'ordre administratif et de gestion du personnel, en vue de réduire le risque de perte, de vol, d'utilisation à mauvais escient, de détournement ou de libération délibérée

d'agents ou de toxines. Le véritable fondement de la sûreté biologique réside dans l'application en laboratoire des pratiques de sécurité biologique.

Les normes applicables aux différents niveaux de sécurité biologique recommandées par l'OMS sont représentées par le tableau 1.

Tableau 1: Normes applicables aux différents niveaux de sécurité biologique

	NIVEAU DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE			
	1	2	3	4
Isolement du laboratoire[a]	Non	Non	Oui	Oui
Salle étanche pour décontamination	Non	Non	Oui	Oui
Ventilation :				
— circulation vers l'intérieur	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— système de ventilation régulé	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— filtre HEPA sur la sortie d'air	Non	Non	Oui/Non[b]	Oui
Double porte d'entrée	Non	Non	Oui	Oui
Sas à air	Non	Non	Non	Oui
Sas à air avec douche	Non	Non	Non	Oui
Vestibule	Non	Non	Oui	–
Vestibule avec douche	Non	Non	Oui/Non[c]	Non
Traitement des effluents	Non	Non	Oui/Non[c]	Oui
Autoclave :				
— sur place	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— dans une salle du laboratoire	Non	Non	Souhaitable	Oui
— à deux portes formant sas	Non	Non	Souhaitable	Oui
Enceinte de sécurité biologique	Non	Souhaitable	Oui	Oui
Système de surveillance de la sécurité du personnel[d]	Non	Non	Souhaitable	Oui

[a] Isolement environnemental et fonctionnel par rapport aux points de passage
[b] Selon la situation de la sortie d'air
[c] Selon le ou les agents qui sont manipulés
[d] Par exemple, fenêtre, télévision en circuit fermé, émetteur-récepteur

Il incombe à chaque laboratoire, en fonction de ses besoins, de la nature de ses activités et des conditions locales, d'élaborer et de mettre en oeuvre un programme de sûreté biologique spécifique. Les mesures de sûreté biologique en laboratoire doivent s'appuyer sur un programme complet de responsabilisation à l'égard des agents pathogènes et des toxines, qui comprend un inventaire actualisé identifiant l'emplacement de ces matières et du personnel y ayant accès et indiquant leur utilisation, leurs transferts internes à l'établissement ou entre établissements, ainsi que toute inactivation et/ou élimination éventuelles des matières. De même, il convient d'établir un protocole de sûreté biologique pour le laboratoire, destiné à guider l'identification, le signalement, l'étude et l'élimination des failles dans la sûreté biologique de cet établissement, y compris les incohérences dans les résultats d'inventaire. Une formation à la sûreté biologique en laboratoire, distincte de la formation à la sécurité biologique en laboratoire, doit être dispensée à tout le personnel.

En résumé, les précautions de sûreté doivent devenir des éléments de routine du travail de laboratoire, à l'égal des mesures d'asepsie ou de sécurité microbiologique.

2- Désinfection et stérilisation

La connaissance des principes de base de la désinfection et de la stérilisation est d'une importance cruciale pour la sécurité biologique au laboratoire. Comme des objets très souillés ne peuvent pas être désinfectés et stérilisés rapidement, il est tout aussi important de connaître les éléments de base du nettoyage préalable à la désinfection (prénettoyage). Le temps de contact nécessaire avec un désinfectant donné est propre à chaque substance et à chaque fabricant. C'est pourquoi toutes les recommandations relatives à l'utilisation des désinfectants doivent être conformes aux spécifications indiquées par le fabricant.

Quelques Définitions

Décontamination : tout processus destiné à éliminer ou tuer des micro-organismes. Ce terme désigne également l'élimination ou la neutralisation de produits chimiques ou radioactifs dangereux.

Désinfectant : substance chimique ou mélange de substances chimiques utilisés pour tuer des micro-organismes, mais pas nécessairement les spores. Les désinfectants sont généralement appliqués sur des surfaces ou objets inanimés.

Désinfection : destruction, par des moyens physiques ou chimiques, de germes mais pas nécessairement de leurs spores.

Stérilisation : processus par lequel on tue ou élimine les micro-organismes et les spores de toute nature.

2.1-Nettoyage du matériel de laboratoire

Le nettoyage consiste à enlever les souillures, les matières organiques et les taches. On peut procéder par brossage, aspiration, dépoussiérage à sec, lavage à l'eau ou avec une éponge humide imprégnée d'eau savonneuse ou additionnée d'un détergent. La crasse, les excréments et les matières organiques peuvent abriter des micro-organismes et gêner l'action microbicide des décontaminants (antiseptiques, germicides chimiques ou désinfectants).

Un nettoyage préalable est nécessaire pour assurer une bonne désinfection ou une bonne stérilisation. Beaucoup de produits germicides ne sont actifs qu'à la

condition d'être appliqués à des objets préalablement nettoyés. Ce prénettoyage doit être effectué avec précaution pour éviter de s'exposer aux agents infectieux.

2.2-Décontamination de l'environnement local

La décontamination des locaux du laboratoire, de son mobilier et de son équipement nécessite l'emploi d'une association de désinfectants liquides et gazeux. Les surfaces peuvent être décontaminées au moyen d'une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) ; une solution contenant 1 g de chlore actif par litre peut convenir pour l'assainissement général des locaux, mais des solutions plus concentrées sont recommandées en cas de situation à haut risque. Pour la décontamination des locaux du laboratoire, les solutions prêtes à l'emploi contenant 3 % de peroxyde d'hydrogène (H2O2) peuvent parfaitement remplacer les solutions d'hypochlorite.

2.3-Décontamination des enceintes de sécurité biologique

Pour décontaminer les enceintes de sécurité biologique de classes I et II, il existe un appareillage qui permet de produire, de faire circuler et de neutraliser indépendamment le formaldéhyde. On peut aussi mettre la quantité désirée de paraformaldéhyde (pour une concentration finale de 0,8 % de formaldéhyde dans l'air) dans une poêle à frire que l'on place ensuite sur une plaque chauffante électrique. On introduit également dans l'enceinte une autre poêle contenant une quantité de bicarbonate d'ammonium de 10 % supérieure à celle de paraformaldéhyde et on la place sur une autre plaque chauffante. Les prises d'alimentation des plaques chauffantes doivent se trouver hors de l'enceinte, de manière à pouvoir régler les plaques depuis l'extérieur en les branchant ou en les débranchant selon le cas. Si l'humidité relative est inférieure à 70 %, il faut également placer dans l'enceinte un récipient ouvert contenant de l'eau chaude avant de fermer hermétiquement le panneau frontal avec du ruban épais (par exemple du ruban adhésif entoilé). Une épaisse feuille de plastique est ensuite scotchée contre l'ouverture frontale et la sortie de la gaine d'évacuation de façon que le gaz ne pénètre pas dans la pièce. Les traversées des fils d'alimentation qui passent à travers le panneau frontal doivent également être étanchéifiées avec du ruban adhésif entoilé.

On branche la plaque électrique qui chauffe le paraformaldéhyde. Une fois que celui-ci s'est entièrement vaporisé, on la débranche. On ne touche plus alors à l'enceinte pendant au moins 6h. Passé ce temps, on branche la deuxième plaque chauffante et on

laisse se vaporiser tout le bicarbonate d'ammonium. On débranche ensuite la plaque et on met en marche le ventilateur de l'enceinte pendant deux intervalles de 2 secondes environ chacun pour faire circuler la vapeur de bicarbonate d'ammonium.

L'enceinte est laissée telle quelle pendant 30 minutes avant d'ouvrir le panneau frontal (ou d'enlever la feuille de plastique) et de dégager la sortie de la gaine d'évacuation.

Avant de se servir de l'enceinte, il faut l'essuyer pour en éliminer les résidus.

2.4-Lavage et décontamination des mains

Dans la mesure du possible, il faut porter des gants chaque fois que l'on manipule du matériel présentant un risque biologique. Toutefois, cette mesure ne remet pas en cause la nécessité, pour le personnel de laboratoire, de se laver régulièrement et convenablement les mains. Le lavage des mains est indispensable lorsque l'on a manipulé des animaux ou du matériel présentant un risque biologique ou encore avant de quitter le laboratoire.

Dans la plupart des cas, un lavage soigneux des mains à l'eau et au savon est suffisant pour les décontaminer, mais l'usage de savons germicides est recommandé dans les situations à haut risque. Il faut bien se savonner les mains en frottant soigneusement pendant au moins une dizaine de secondes, puis les rincer à l'eau claire et les sécher avec du papier ou une serviette propre (on peut éventuellement utiliser un séchoir à air chaud).

Il est recommandé de disposer de robinets commandés avec le pied ou le coude.

Dans le cas contraire, on fermera le robinet en le saisissant avec une serviette en papier ou en tissu afin de ne pas se recontaminer les mains.

Comme indiqué plus haut, les produits pour friction à base d'alcool peuvent être utilisés pour se nettoyer les mains si celles-ci ne sont que légèrement souillées et que l'on ne peut pas se les laver convenablement.

2.5-Désinfection et stérilisation par la chaleur

La chaleur est l'agent physique le plus couramment utilisé pour éliminer les germes pathogènes. La chaleur « sèche », qui n'est absolument pas corrosive, est utilisée pour traiter de nombreux instruments et accessoires de laboratoire qui sont capables de supporter une température de 160 °C ou davantage pendant 2 à 4 h. Le

brûlage et l'incinération sont également des formes de traitement par la chaleur sèche. L'autoclavage est la manière la plus efficace d'utiliser la chaleur « humide ».

L'ébullition ne tue pas nécessairement tous les micro-organismes et les germes pathogènes, mais on peut y recourir comme traitement stérilisateur minimum lorsque d'autres méthodes (désinfection ou décontamination chimique, autoclavage) ne sont ni utilisable ni disponible.

Les objets stérilisés doivent être manipulés et rangés de manière à rester stériles jusqu'au moment de leur utilisation.

2.6-Autoclavage

Le traitement par la vapeur saturante sous pression (autoclavage) constitue le moyen le plus efficace et le plus fiable pour stériliser le matériel de laboratoire. Dans la plupart des cas, les cycles suivants (tableau 2) assurent la stérilisation si l'autoclave a été correctement chargé.

Tableau 2: Cycle de stérilisation à l'autoclave

Temps de palier (minutes)	Températures (°C)
3	134
10	126
15	121
25	115

Parmi les divers types d'autoclaves, on peut citer les suivants :

- Autoclaves à vapeur directe,
- Autoclaves à extraction d'air,
- Autoclaves de type autocuiseur à source de chauffage extérieure.

Concernant le chargement des autoclaves : le matériel ne doit pas être entassé à l'intérieur de la chambre pour que la vapeur puisse pénétrer sans difficulté et que l'air puisse être éliminé facilement. Il faut que la vapeur puisse atteindre le contenu des sacs.

2.7-Incinération

L'incinération est une méthode utile pour se débarrasser des carcasses d'animaux, des pièces anatomiques ou autres déchets de laboratoire, avec ou sans

décontamination préalable. L'incinération des matériels infectieux ne peut se substituer à l'autoclavage que si l'incinérateur est placé sous la responsabilité du laboratoire.

Pour donner satisfaction, il faut que l'incinérateur comporte un dispositif efficace de régulation de la température et une chambre de combustion secondaire. Un grand nombre d'incinérateurs, notamment ceux qui ne comportent qu'une seule chambre de combustion, ne permettent pas de traiter de manière satisfaisante le matériel infectieux, les carcasses d'animaux et les matières plastiques. En effet la destruction risque de ne pas être totale et l'effluent qui sort par la cheminée peut polluer l'atmosphère du fait de la présence de micro-organismes ou de substances et fumées toxiques. Cela étant, il existe, pour les chambres de combustion, de nombreux types de configuration qui donnent satisfaction, mais l'idéal est d'obtenir une température d'au moins 800 °C dans la chambre primaire et d'au moins 1000 °C dans la chambre secondaire.

2.8-Elimination

L'élimination des déchets de laboratoire ou des déchets médicaux est soumise à diverses dispositions réglementaires régionales, nationales ou internationales et les versions les plus récentes de ces documents doivent être consultées avant d'élaborer et de mettre en oeuvre un programme portant sur la manipulation, le transport et l'élimination des déchets qui présentent un risque biologique. En règle générale, les cendres extraites des incinérateurs peuvent être traitées comme des cendres domestiques et prises en charge par les services locaux d'enlèvement des ordures. Les déchets autoclavés peuvent être éliminés par incinération sur un site hors de la zone du laboratoire ou enfouis dans une décharge autorisée.

VII- LA SURVEILLANCE EPIDEMOLOGIQUE (7)

1- Définition et objectifs de la surveillance

En Occident, la première utilisation systématique de données de morbidité et de mortalité conduisant à une action de contrôle et de prévention remonte aux grandes épidémies de peste survenues à Venise et à Marseille au XIVe siècle.

La surveillance épidémiologique désigne « le processus continu et systématique de collecte, de compilation et d'analyse des données, ainsi que leur diffusion à tous ceux qui ont contribué à cette collecte et à tous ceux qui ont besoin d'être informés ». La finalité d'un tel système de surveillance est de fournir rapidement des informations

fiables servant à la prise de mesures de prévention. L'utilisation de l'informatique en réseau permet actuellement la mise en commun des données et la communication rapide avec tous les acteurs de la surveillance.

Les objectifs d'un système de surveillance en santé publique doivent être explicitement définis avant sa mise en place. Ils peuvent être de plusieurs natures :

- décrire un problème de santé pour mieux le comprendre, pour définir des priorités d'action ou déterminer des actions de prévention et de contrôle,
- évaluer les conséquences épidémiologiques d'un programme de santé publique,
- fournir des données nécessaires à la mise au point de nouvelles méthodes analytiques,
- détecter des épisodes épidémiques ou des événements rares pour une prévention rapide de la survenue de cas ultérieurs.

2- Méthodes de surveillance

Plusieurs méthodes de surveillances sont disponibles selon les cas :

- Surveillance active ou passive,
- Surveillance exhaustive,
- Surveillance sur échantillonnage,
- Enquêtes périodiques ou ponctuelles.

3- Rôle du Laboratoire dans la surveillance épidémiologique (6)

Les informations fiables fournies à temps par les laboratoires constituent le fondement de tout programme de prévention et de lutte contre les maladies transmissibles. La surveillance épidémiologique désigne une information en vue de l'action.

4- Rappel sur les fonctions de Surveillance

Les fonctions principales de surveillance sont : la détection et la notification des maladies à l'institution ayant envoyé les échantillons et aux autorités de santé publique, l'investigation et confirmation des épidémies, l'analyse des échantillons et l'enregistrement des résultats et enfin l'action et l'intervention concernant les épidémies.

Les fonctions d'appui sont la formation et la supervision continue régulière, apport des ressources nécessaires et l'application des normes, des standards et des directives de surveillance.

5- Rôle du laboratoire en matière de surveillance et de lutte contre les maladies

- Confirmer l'étiologie des maladies (rougeole, fièvre jaune, choléra, méningite…),
- Identifier les interventions appropriées (ex : thérapie antimicrobienne ou vaccin),
- Déterminer les tendances de la maladie,
- Assurer le suivi de l'efficacité des programmes (programmes d'élimination et d'éradication),
- Détecter de nouveaux pathogènes ou ceux qui réémergent, les microorganismes continuent de s'adapter et de changer et de temps en temps, de nouveaux microorganismes apparaissent,
- Il arrive rarement que ceux-ci soient nouveaux. Mais ils peuvent avoir été méconnus auparavant, présents chez un hôte animal ou présents dans un réservoir environnemental,
- La surveillance de la résistance aux antimicrobiens qui handicape l'efficacité des programmes de lutte, le laboratoire doit la détecter afin de proposer de nouvelles molécules actives,

6- Participation du laboratoire à plusieurs niveaux

La surveillance épidémiologique doit être exécutée dans tout le territoire dont la mise en place de réseaux bien déterminés au niveau périphérique (ex : centre de santé, malades non hospitalisés), au niveau national (ex : laboratoire national de référence) et au niveau international (laboratoires internationaux de référence).

7- Rôle du laboratoire lors d'épidémies et d'enquête de terrain

Le laboratoire assure la surveillance: très souvent, il est le premier à détecter une activité anormale : confirmer le pathogène dans les premiers cas, surveiller la résistance aux antimicrobiens (ex. Choléra), faire des études spéciales (ex. séroprévalence), confirmer la fin d'une épidémie.

8- Place du laboratoire dans le dépistage des résistances bactériennes aux antibiotiques (8)

Dans les infections bactériennes, le biologiste sera sollicité par le praticien essentiellement pour assurer l'identification des bactéries en cause et déterminer si ces agents possèdent des résistances acquises aux antibiotiques habituellement utilisés en thérapeutique. Un traitement présomptif mal adapté pourra ainsi être rapidement modifié au vu de l'antibiogramme. Une bonne connaissance des bactéries impliquées en pathologie, des antibiogrammes et des indications des antibiotiques est nécessaire pour permettre au biologiste d'exercer un dialogue constructif avec le médecin traitant et une activité de conseil favorisant le bon usage des antibiotiques.

Le choix de pratiquer un antibiogramme sur une bactérie isolée d'un prélèvement à visée microbiologique est essentiel, car il suppose que cette bactérie est jugée comme responsable de l'infection et ne résulte pas d'une simple contamination. Le choix des antibiotiques rendus est également capital car il doit permettre d'orienter utilement le praticien.

Une formation continue régulière, éventuellement pratiquée au sein de réseaux participant à la surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques, représente donc un atout majeur dans ce domaine.

9- Rôle des laboratoires de microbiologie dans la surveillance des infections nosocomiales bactériennes (9)

En raison de leur situation centrale et des nombreuses informations dont ils disposent, les laboratoires de microbiologie doivent faire partie intégrante du système de surveillance et de prévention des infections nosocomiales et des phénomènes épidémiques hospitaliers, dans le cadre des programmes initiés par le comité de lutte contre les infections nosocomiales et ceci en dehors même de l'éventuelle mise en oeuvre de techniques spécifiques (surveillance microbiologique de l'environnement, marqueurs épidémiologiques moléculaires, etc.).

L'exploitation des informations fournies par les laboratoires dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales implique :

- l'utilisation de l'outil informatique qui doit permettre l'identification des doublons épidémiologiques (même souche chez un même malade), la constitution de dossiers microbiologiques chronologiques des malades et les traitements statistiques,
- la mise à la disposition des laboratoires de la date d'entrée à l'hôpital des patients, en clair sur chaque demande d'analyse (par exemple sur les étiquettes d'identification des patients), afin d'élargir la surveillance aux infections causées par des microorganismes non typiquement hospitaliers qui représentent la moitié au moins des infections nosocomiales. Pour ces infections, en effet, le diagnostic de la nosocomialité repose sur le délai entre la date d'entrée à l'hôpital et la date de l'infection. Cette mesure simple est prioritaire,
- d'organiser au laboratoire le travail par service clinique plutôt que par secteur technique, afin de permettre une vue synthétique des résultats microbiologiques de chaque service de l'hôpital.

La surveillance depuis le laboratoire doit porter en priorité sur les prélèvements d'interprétation relativement "univoque" (hémocultures, urines, pus profonds prélevés par ponction ou chirurgie, séreuses, cathéters veineux), c'est-à-dire pour lesquels les données microbiologiques permettent de suggérer fortement (urines), voire d'affirmer (hémocultures), le diagnostic d'infection. Pour les infections urinaires, les bactériémies et fongémies, la surveillance depuis les laboratoires est particulièrement efficace.

La surveillance depuis le laboratoire doit aussi porter en priorité sur les espèces typiquement hospitalières et les phénotypes de résistance aux antibiotiques typiquement hospitaliers pour lesquels le caractère nosocomial est évident. Ceci permet au laboratoire :

- d'identifier assez facilement une partie des infections nosocomiales avec une bonne spécificité (exemple: infections urinaires à klebsielles multirésistantes, bactériémies à bacilles pyocyaniques ou à staphylocoques dorés multirésistants),
- de jouer un rôle actif dans l'identification rapide des malades colonisés ou infectés par des bactéries multirésistantes, dans le cadre des programmes de prévention de la diffusion de ces bactéries, et donc de mesurer facilement l'impact des mesures de prévention de la diffusion de ces bactéries,
- de détecter précocement certaines épidémies.

DEUXIEME PARTIE

NOTRE ETUDE

NOTRE ETUDE

I- OBJECTIFS DE NOTRE ETUDE

Les objectifs de cette étude ont été de:

- énumérer les normes pour un laboratoire de bactériologie,
- décrire les méthodes de travail du laboratoire de bactériologie du CHU-JRA Antananarivo,
- tirer les meilleures méthodes afin d'améliorer la qualité du service fourni par le laboratoire.

II- CADRE D'ETUDE

Notre étude a été réalisée au sein de l'Unité Paraclinique de Formation et de Recherche en Microbiologie (UPFRM) au Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo, Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona (CHU-JRA) qui est un établissement de référence selon la politique du Ministère de la santé, du planning familial et de la protection sociale.

Elle reçoit les demandes d'analyses provenant de nombreuses formations cliniques publiques et privées.

III- METHODE

Il s'agit d'une étude prospective de type descriptive en se basant sur le document « EVALMIC » (questionnaire d'auto-évaluation d'assurance qualité en microbiologie), édité par le collège de Bactériologie-Virologie, Hygiène des hôpitaux et de la Société Française de Microbiologie, version 1.

Elle a intéressé le fonctionnement du laboratoire de Bactériologie du CHU-JRA Antananarivo.

Toutes les activités du laboratoire ont été incluses.

Aucune activité n'a été exclue.

Les paramètres retenus et étudiés ont été la phase préanalytique, la phase analytique, la phase post analytique, la sécurité et l'hygiène hospitalières.

IV- RESULTAT

1- ORGANISATION GENERALE DU LABORATOIRE

1.1- Politique qualité

La Direction de l'établissement a pris l'engagement de suivre la politique de qualité au sein de l'établissement, y compris le laboratoire de bactériologie. Ceci en se basant sur le programme du Madagascar Action Plan (MAP).

Cependant, cette politique de qualité est difficile à exécuter à cause des différentes entités impliquées tant administratives que financière (Ministère de la Santé, du planning familial et de la protection sociale, Ministère des Finances et du Budget).

Au niveau du laboratoire de bactériologie, la personne responsable de l'assurance qualité est le Chef de service lui même. Il essaie de mettre en place le système qualité malgré l'absence d'un comité officiel national de l'assurance qualité responsable de l'harmonisation de la démarche qualité.

1.2- Documentation

Actuellement, il n'y a aucun document « démarche qualité » écrit propre à l'UPFR Microbiologie. -

D'ailleurs, il n'y a pas de texte réglementaire officiel national sur les normes en matière de création et de fonctionnement d'un laboratoire de bactériologie. Il n'y a pas non plus de Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA).

Le laboratoire fonctionne alors avec les textes et documents issus de différentes institutions telles que OMS, Société Française de Microbiologie, gouvernement français…

La gestion des non conformités pour chaque type d'activité et chaque phase d'analyse est adaptée à partir de ces documents sus cités et ceci s'exécute après instructions verbales.

1.3- Communication

Etant donné qu'il n'y a pas de texte officiel sur la gestion d'un laboratoire de bactériologie, l'UPFRM CHU-JRA a adopté les notes écrites et réunions comme moyen de communication entre les personnels du laboratoire, pour émettre les différentes procédures à suivre et résoudre les éventuels problèmes techniques et administratifs.

1.4- Archivage

Le laboratoire garde les dossiers et les livres de laboratoire, c'est-à-dire l'ensemble des documents se rapportant aux résultats des patients depuis plus de 20 ans. Récemment des copies de demandes d'analyse sont conservées avec les dossiers de résultats.

Mais il n'y a pas de locaux adaptés à l'archivage de dossier permettant la conservation sans altération, ni d'instructions écrites réglementant l'accès aux archives.

D'autres dossiers sont gardés en archivage : les résultats du contrôle qualité, les documents relatifs aux réactifs, consommables et matériels.

1.5- Logistique

Concernant la gestion de la logistique, le responsable de l'UPFR dresse uniquement la liste des réactifs dont le laboratoire aura besoin pendant un temps déterminé, besoin tant qualitatif que quantitatif. Il remet alors la liste aux responsables du Département Laboratoire qui à leur tour remettent les documents y concernant aux instances supérieures : Direction de l'établissement voire le Ministère de tutelle.

2- EQUIPEMENT

2.1- Disposition générale

Le laboratoire de bactériologie dispose de différents équipements de base pour fonctionner. La plupart des équipements en service sont usés et mal entretenus.

Aucun dossier concernant ces appareils n'est disponible : dossiers d'acquisition, de mise en service et d'entretien.

2.2- Informatique

L'UPFRM possède un système informatique individuel pour gérer les activités du laboratoire : édition des résultats, gestion des statistiques et des activités, diverses activités de secrétariat.

Le système n'est pas conçu pour éviter la perte accidentelle d'information et n'est pas protégé contre d'éventuelles malveillances telle que la modification d'information ou de programme par d'autres personnes que les personnels autorisés à y accéder.

2.3- Centrifugation

Le laboratoire de bactériologie ne possède pas de centrifugeuse.

2.4- Enceinte et appareils thermostatés

Concernant l'enregistrement des paramètres produits par tous les appareils thermostatés, les relevés de température s'effectuent deux fois par mois et enregistrés dans le cahier de paillasse.

Aucun contrôle métrologique de la température des réfrigérateurs n'a été effectué.

Le laboratoire ne possède pas de congélateur ni de chambres froides et chaudes.

2.5- Hottes bactériologiques

Le laboratoire possède une hotte de sécurité de classe I. Mais il n'y a pas de contrat d'entretien de l'hotte ni de procédure de décontamination préalable à l'entretien.

2.6- Microscope

Les microscopes du laboratoire datent d'il y a 15 ans. L'entretien se fait uniquement après usage quotidien par les techniciens de laboratoire. Le service Biomédical assure la réparation des pièces défectueuses.

3- REACTIFS

Le laboratoire de bactériologie utilise deux types de réactifs: les produits prêts à l'emploi et les produits à préparer. La préparation de ces réactifs est assurée par des techniciens de laboratoire, qui se déroule dans un local séparé des locaux de manipulations bactériologiques.

La préparation se déroule comme suit :

- les poudres prêtes à l'emploi sont pesées, dissoutes dans de l'eau distillée, puis mises en ébullition ;
- ensuite, des contrôles du pH sont effectués avant la mise en bouteille ou flacons ou tubes que l'on mette ensuite à stériliser dans l'autoclave ;
- enfin, les produits sont conservés au réfrigérateur jusqu'à la consommation.

Le mode d'acquisition des réactifs doit suivre systématiquement et strictement la procédure administrative. Cependant, cette procédure engendre plusieurs contraintes : la lenteur de la procédure, la précision pointue en matière de nomenclature des réactifs et consommables éditée dans les documents de commande.

A la réception des produits, la conformité des produits indiquée dans le cahier des charges définis lors des commandes est vérifiée.

A chaque réactif s'accompagne les documents concernant la conservation, le mode d'emploi, le numéro de lot, qui sont gardés jusqu'à l'épuisement du lot. On prête attention aux dates de péremption de chaque produit.

Concernant les réactifs préparés au laboratoire, le contrôle qualité n'est effectué qu'après une constatation d'une anomalie en cours de manipulation de chaque produit. Aucun document de traçabilité de chaque lot n'existe au laboratoire.

4- PHASE PREANALYTIQUE

4.1- Accueil du public

Le laboratoire a mis en place un système d'accueil des patients. Ce système est composé de :

- un guichet qui édite l'Avis des Sommes à Payer : c'est le premier point de contact entre les laboratoires et le patient. On y recueille l'ordonnance médicale et informe le patient sur les sommes qu'il doit verser pour l'exécution des analyses indiquées ;
- un centre de prélèvement : c'est l'endroit où l'on pratique les prélèvements proprement dits. Les patients peuvent aussi y recevoir des informations concernant les analyses et plus particulièrement les conditions requises pour un prélèvement donné.

Il existe, à l'usage des consultants, un fléchage et un signalement explicite du laboratoire. L'affichage de l'heure des prélèvements est bien indiqué.

Il y a une possibilité de stationnement à proximité du laboratoire mais pas de stationnement réservé pour les personnes handicapées. Les personnes handicapées ont des problèmes pour l'accès au laboratoire car le laboratoire se situe au 1er étage et il n'y a pas de rampe d'accès.

Il existe des sanitaires adaptés à la fonction de prélèvement et au confort des patients séparés pour Hommes et Femmes, mais pas de sanitaires spéciaux pour handicapés.

L’accueil de chaque patient pour l’enregistrement de son état civil et des examens prescrits ainsi que pour la délivrance de conseil s’opère dans un local isolé phoniquement de la salle d’attente.

Les personnes ayant accès aux donnés médicales sont sensibilisées à la notion de secret médical.

4.2- Recueil des échantillons

Il existe une liste des personnes autorisées à pratiquer le recueil des échantillons et un guide écrit de bonne exécution de recueil des échantillons bactériologiques détaillé et facile à comprendre, à l’usage des diverses personnes chargées de cette exécution : biologistes, médecins, infirmiers, techniciens, étudiants et pour certains prélèvements comme les urines, le patient lui-même.

Les points suivants sont spécifiés :

- matériels utilisés,
- la façon de s’en servir,
- le volume d’échantillon requis,
- le mode d’étiquetage des échantillons,
- comment remplir le formulaire d’examen,
- les précautions d’hygiène à respecter,
- les conditions de conservation des échantillons,
- la liste des principales causes de non-conformité.

Pour chaque demande d’examens, un traitement en non-conformité est mis en œuvre chaque fois que l’un des points suivants fait défaut :

- un identifiant univoque,
- le nom du prescripteur,
- l’examen à réaliser,
- la date et l’heure du prélèvement,
- les renseignements cliniques et/ou thérapeutiques nécessaires à la réalisation de l’examen et à son interprétation.

L’heure d’arrivée ou de réception des échantillons sera marquée sur la fiche accompagnant le prélèvement.

5- PHASE ANALYTIQUE

5.1- Disposition générale

Le laboratoire dispose de trois paillasses :

- une pour le frottis cervico-vaginal (FCV) et la coproculture,
- une pour la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR),
- et une qui est destinée aux autres prélèvements comme l'urine (ECBU, culot HLM), les pus, les frottis urétraux, les liquides de ponctions divers (LCR, liquide pleural, liquide d'ascite, …).

Ces paillasses sont assurées par trois médecins assistants généralistes et trois techniciens de laboratoire. Le déroulement des actes se fait comme suit : après vérification des échantillons (le prélèvement, les données concernant le prélèvement : identité, ordonnance toute entière….), l'enregistrement manuel est effectué dans le cahier de paillasse. Puis les échantillons sont distribués aux paillasses correspondantes pour être manipulés. Enfin, les résultats sont transcrits manuellement dans le même cahier de paillasse.

Sur la feuille de travail, l'identifiant de la personne réalisant l'analyse n'est pas mentionné.

Il n'existe pas de procédures écrites et explicites détaillées sur la réalisation technique de toute analyse, ni de modes opératoires incluant les méthodes utilisées ni de modes d'utilisation des instruments.

5.2- Contrôle qualité

Le laboratoire participe à des évaluations externes de la qualité. La qualité de nos antibiogrammes réalisés par méthode manuelle est contrôlée régulièrement avec des souches *ad hoc* déposées dans une collection internationale. Le laboratoire ne possède pas de méthode automatisée pour contrôler la qualité des antibiogrammes.

Le laboratoire n'utilise pas de procédure écrite pour la conservation des souches utilisées pour le contrôle qualité.

5.3- Continuité de service

Pendant les heures ouvrables, le laboratoire dispose d'un système de prise en charge des examens urgents. En dehors des heures ouvrables, le laboratoire reste fermé, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de garde.

5.4- Validation analytique

Les Règles de validations analytiques adoptées par le laboratoire sont celles de la Société Française de Microbiologie (SFM).

La validation analytique est faite par les manipulateurs. Le nom et la qualité de la personne réalisant la validation analytique ne sont pas mentionnés sur la feuille de travail.

Concernant les caractères d'identification bactérienne, seuls quelques uns (les plus tranchants) sont mentionnés dans le cahier de paillasse mais pas tous.

6- PHASE POSTANALYTIQUE

6.1-Validation biologique

La validation biologique est réalisée par le biologiste apposant sa signature sur les résultats en connaissant les informations portées sur la fiche de prélèvement.

6.2- Compte rendu d'analyse

Le compte rendu d'analyse comporte les éléments suivants :

- papier à en tête,
- nom du patient,
- coordonnés du prescripteur,
- numéro de référence interne du laboratoire,
- date de la réponse,
- date et heure du prélèvement,
- renseignement clinique,
- nom et signature d'un biologiste du laboratoire,
- le résultat de l'analyse avec commentaire éventuellement.

6.3- Transmission des résultats (au patient, au prescripteur)

Le laboratoire n'a pas la possibilité de connaître le délai moyen de transmission des résultats, c'est-à-dire le temps séparant l'obtention d'un résultat de sa prise en compte par le clinicien.

La transmission des résultats ne s'effectue pas par voie télématique ni par voie postale. Ce sont les personnels des services cliniques prescripteurs ou un membre de la famille des patients ou le patient lui-même qui récupère les résultats au laboratoire et les transmettent au médecin traitant. Il existe une procédure d'identification de la personne

récupérant les résultats en apposant sa signature et son nom dans le cahier de sortie des résultats.

Le laboratoire veille à ce qu'aucun résultat ne soit transmis à une compagnie d'assurances, y compris à un médecin de celle-ci.

En cas d'examen demandé en urgence ou d'urgence vitale pour le patient ou la santé publique, le laboratoire peut transmettre des résultats partiels avant la validation biologique de l'ensemble des résultats demandés. Lors du processus de validation biologique, le médecin traitant est informé que les résultats initialement transmis en urgence avaient été visés dans leur ensemble par un biologiste, à moins que ce soit le biologiste lui-même qui informe le médecin traitant sur les résultats observés.

7- HYGIENE - SECURITE

Pour l'hygiène et la sécurité au labo, plusieurs documents édités par le Service d'Hygiène Hospitalière sont mis à la disposition de l'UPFRM. A part cela, le laboratoire dispose d'autres documents édités par l'OMS. Cependant, le laboratoire a beaucoup de difficultés à mettre en œuvre toutes les recommandations inscrites dans ces documents.

1. Concernant le transport des échantillons biologiques, le laboratoire ne possède pas de procédures de conduite à tenir écrites en cas d'accident sur la voie publique. Cependant, chaque médecin prescripteur est sensé connaître toutes les conditions de transport des échantillons biologiques. Et la plupart des dispositifs de transport des échantillons vers le laboratoire ne sont pas correctes. Il n'y a pas de formation pour les personnes réalisant le transport des échantillons biologique directement donnée par le laboratoire.

Le laboratoire accepte l'envoie par la poste des échantillons biologiques à risque et il connaît et respecte les contraintes de ces envoies.

2. A propos des informations sur les risques biologiques et leurs préventions, le laboratoire informe la médecine de travail des risques spécifiques encourus par chaque catégorie de personnel. Toute personne nouvelle au laboratoire reçoit une formation vis à vis des risques infectieux et de leur prévention. L'ensemble du personnel a reçu une formation concernant la conduite à tenir en cas d'accident

d’exposition au sang ou à un autre liquide biologique, d’ailleurs la conduite à tenir en cas d’accident d’exposition au sang ou à un liquide biologique fait l’objet d’une affiche.

Les stagiaires au laboratoire bénéficient des actions préventives octroyées par l’université.

La conduite à tenir en cas de bris ou de fuite d’un récipient contenant un échantillon biologique n’est pas codifiée dans un plan écrit de sécurité biologique.

Enfin, le laboratoire n’a pas mis en place une signalétique indiquant le risque de danger biologique.

3. Concernant la disposition du laboratoire, le local de travail n’est séparé du couloir public qu’avec une seule porte ordinaire. Les dangers de contaminations biologiques sont énormes. Le laboratoire essaye alors de limiter au maximum la facilité aux accès pour les personnes étrangères au service.

Concernant la conduite pour toute personne qui circule au laboratoire, des règles sont élaborées tels que :

- l’interdiction de pipeter à la bouche, de manger, de boire et de fumer,
- le port obligatoire de tenue de travail,
- le port des gants pour toutes les manipulations sous hotte ou non:
  - lors des prélèvements bactériologiques,
  - le déballage des prélèvements,
  - l’ouverture des différents tubes de prélèvements.

Le port des gants à proximité d’une flamme n’est pas interdit au laboratoire.

Pour le nettoyage et la désinfection au laboratoire, il n’existe qu’un seul poste de lavage des mains et qui comporte outre l’eau et le savon un antiseptique qui est l’alcool.

Dans la salle de prélèvement, il n’existe pas de savon liquide ni d’essuie main à usage unique ni de tenue de protection.

4. Concernant le nettoyage des surfaces, il existe des procédures écrites qui décrivent le nettoyage et la désinfection des postes de travail, des sols, des surfaces (hors paillasse), et des sanitaires.

Les incubateurs et les réfrigérateurs sont désinfectés irrégulièrement, la plupart du temps seulement en cas de contamination massive. Par exemple la contamination par le bacille pyocyanique.

Les personnes chargées de ces fonctions ont reçu une formation spécifique.

5. Concernant le tri et le traitement des déchets, le laboratoire a une procédure écrite. Le laboratoire a des filières distinctes pour le ramassage et le stockage des déchets selon leur nature (couleur des sacs ou de conteneurs,…).

Concernant l'autoclavage des déchets, le laboratoire ne possède qu'un autoclave destiné à la stérilisation. Les déchets à risque infectieux ne pourront alors être préalablement autoclavés.

Les déchets à risque infectieux (produit biologique, divers matériels contaminés) sont incinérés par une filière autorisée.

TROISIEME PARTIE

COMMENTAIRES DISCUSSION ET SUGGETIONS

COMMENTAIRES DISCUSSION ET SUGGESTIONS

En pathologie infectieuse, le laboratoire de bactériologie est une unité paraclinique indispensable dans la prise en charge du patient. Il a le principal rôle de déterminer l'éventuel agent pathogène ainsi que le principal moyen de lutter contre cet agent par l'établissement de l'antibiogramme y afférent. Pour arriver à cette fin, le laboratoire doit disposer de plusieurs moyens surtouts matériels en vue des réalisations techniques. Cependant, même en possession de tous les matériels quel qu'il soit, cela ne suffira pas pour le laboratoire d'assurer sa fonction dans les normes. Une politique d'organisation générale est indispensable. Cette politique générale devrait être basée sur des textes officiels. Or à Madagascar, aucun texte régissant le bon fonctionnement d'un laboratoire n'est encore disponible pour l'heure actuelle. Nous fonctionnons alors par tâtonnement et cela par l'application des normes éditées par les pays avancés ou par l'OMS, normes adaptées avec les moyens existants sur place. Il n'y aura jamais donc de rigueur en matière d'assurance qualité. Or l'assurance qualité est la base d'un résultat juste garant d'une prise en charge thérapeutique adéquate pour le patient.

Dans les pays industrialisés, en France par exemple, le Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) a été mis en place il y a une dizaine d'années. Ce guide est régi par des textes légaux. Son application a fait l'objet d'une évaluation. En bactériologie, cette évaluation a été concrétisée à l'aide du document EVALMIC (10), document dont l'utilisation nous semble être judicieuse dans notre étude. Actuellement, en France, chaque unité de laboratoire dispose d'un document consultable par tous les personnels qui en ont besoin et à n'importe quel moment dans l'exécution de leurs tâches quotidiennes.

1- ORGANISATION GENERALE DU LABORATOIRE

Comme tout laboratoire de bactériologie clinique, l'UPFR microbiologie du CHU d'Antananarivo effectue toutes les activités tant administratives que techniques, et arrive à les assurer malgré les difficultés rencontrées durant son fonctionnement.

En même temps, le laboratoire par l'intermédiaire de son chef de service essaie de mettre en place le système qualité malgré ces difficultés.

L'assurance qualité, c'est officiellement l'ensemble des activités préétablies et systématiques mises en oeuvre dans le cadre d'un système qualité et démontrées en tant

que de besoin, pour donner la confiance appropriée en ce qu'une entité satisfera aux exigences pour la qualité, c'est à dire l'ensemble des dispositions prédéfinies et systématiquement appliquées dans le but de donner confiance aux clients que ces exigences seront respectées (11). Ces dispositions sont décrites dans des normes (dont le GBEA en est un exemple).

Actuellement, le laboratoire de bactériologie de l'HJRA se réfère à ces différents documents étrangers, des adaptations sont alors mises en œuvre surtout dans le domaine technique. L'avantage majeur de cet acte c'est d'avoir une ligne de conduite directrice pour obtenir des résultats justes, à partir de différentes recommandations qui sont toutes considérées comme normes. L'inconvénient c'est que l'adaptation effectuée ne pourra pas faire l'objet d'une validation vu qu'aucun texte officiel n'est établi concernant l'assurance qualité. La technique adaptée ne pourra pas faire non plus l'objet d'une comparaison avec celle appliquée à la lettre conduite par le GBEA. Seuls les résultats sont valides après constatation des résultats de contrôle de qualité externe entrepris par le laboratoire.

L'assurance qualité correspond à une obligation de moyens (12). Et rappelons que les biologistes, contrairement à leurs confrères cliniciens, ont une obligation de résultats. Elle s'intéresse avant tout à la confiance que doivent avoir les « clients », alors il est important de mettre en œuvre ce système qualité dans notre laboratoire. Sa mise en œuvre nécessite bien sûr des moyens dont l'acquisition devrait faire intervenir différentes entités : politique générale du gouvernement, du ministère de la santé, de l'établissement hospitalier et du laboratoire.

Concernant la documentation, nous pensons qu'il serait mieux d'éditer des documents écrits propres au laboratoire de bactériologie du CHU sur cette démarche qualité. Ce serait des documents de base qui pourraient d'ailleurs être pris comme références pour tout Madagascar.

Alors qu'une démarche qualité apporte une plus grande rigueur dans les méthodes de travail et dans l'organisation, une meilleure définition des fonctions et des responsabilités, une harmonisation des pratiques, le suivi des non-conformités et des dysfonctionnements est toujours une priorité. A ce niveau, la gestion de la qualité rejoint la gestion et la prévention des risques. C'est l'intérêt principal de la qualité. De même dans tout référentiel, la rédaction de documents qualité interne est incontournable

et impose de passer d'une tradition orale à l'écrit. Ces documents indispensables sont le garant de la traçabilité de toutes les actions. (13)

Les moyens de communication entre les personnels du laboratoire sont les notes écrites et réunions. Cette méthode permet au laboratoire de faire face rapidement aux différents problèmes qui peuvent survenir inopinément. L'adaptation est de rigueur et l'information rapide des personnels du labo sur les mesures prises permet d'assurer la continuité du travail.

Concernant l'archivage, le laboratoire détient plusieurs données de résultats d'analyse bactériologique datant de plus de 20 ans. Ces données sont conservées sur des supports papier sous forme de cahier. Ces données ont une grande valeur scientifique. Effectivement, à partir de ces données, nous pouvons étudier l'évolution des phénotypes de résistance des souches isolées durant une période assez longue. Nous pouvons également déterminer l'évolution de la nature de la population bactérienne isolée des différents prélèvements. Cependant, un problème pourrait se poser: les méthodes et techniques d'analyse appliquées durant cette époque sont différentes de celles appliquées actuellement. Les résultats ne pourraient alors pas tous être comparables. Seules les méthodes conservées dans des documents écrits et que l'on pourra reproduire comparatives. Malgré ces méthodes évolutives, le laboratoire de bactériologie applique encore actuellement des techniques de bases d'identification bactériologique, techniques appliquées depuis toujours.

Malheureusement, faute d'infrastructure adéquate, ces documents archives sont entassés dans un petit local situé dans le laboratoire lui-même où la conservation est compromise. Le local est accessible par tous et cela constitue un danger du point de vue secret médical. Ces documents subissent facilement des altérations (humidité, poussières). Nous pensons qu'il serait préférable de conserver tous les dossiers dans un endroit hors du local de laboratoire, loin de l'humidité, dans un bureau fermé à clef avec des règlements d'accès écrits.

Concernant la gestion de la logistique c'est à dire des réactifs et consommables, toutes les UPFR du CHU rencontrent régulièrement des problèmes d'approvisionnement. Les problèmes viennent surtout du budget alloué aux achats de réactifs et consommables qui est restreint et n'arrive pas à suivre les besoins des laboratoires, besoins en fonction du débit des patients qui fréquentent les laboratoires.

Ce budget est déterminé par l'Etat malagasy et géré par l'administration étatique. Parfois, il est nécessaire de diminuer les commandes donc les besoins ne seront jamais satisfaits.

Durant notre stage dans le laboratoire, nous avons constaté cette lacune en matière d'approvisionnement. Le débit annuel des activités du laboratoire est alors très irrégulier. Parfois, il y a des moments où les réserves en réactifs sont épuisées et le laboratoire est obligé d'arrêter pendant un certain temps ses activités, et qu'il faut attendre encore la prochaine commande et ainsi de suite. Et les premières victimes qui subissent les conséquences sont les patients qui sont obligés d'effectuer beaucoup de déplacements dans la ville pour trouver un laboratoire qui traite la bactériologie. Le seul par l'intermédiaire du responsable de l'UPFR.

L'établissement des états de commandes est effectué par les agents administratifs du département laboratoire, de l'établissement hospitalier, du CHU Antananarivo et du Ministère de tutelle. Nous trouvons que cela engendre un grand retard à l'approvisionnement du labo, ils mettent beaucoup de temps pour étudier les dossiers et aussi pour commander les réactifs. Nous pensons que l'autogestion de l'approvisionnement par le département ou tout au plus par l'établissement serait souhaitable. Etant donné que les patients payent toutes les sommes des analyses à effectuer, les fonds reçus devront alors être restitués pour l'achat de nouveaux réactifs et ainsi de suite. Un contrôleur de l'Etat pourrait y intervenir pour suivre uniquement les mouvements des fonds. Sinon, il serait souhaitable que le budget pour les laboratoires soit augmenté, parce que la gestion et l'achat de réactifs et de consommables conditionnent en grande partie la qualité de la phase analytique.

2- EQUIPEMENT

Lors de la construction de l'hôpital, vers les années 70, le laboratoire a été doté de tous les instruments nécessaires au diagnostic bactériologique. La plupart de ces instruments sont actuellement usés. Le manque d'entretien n'empêche pas certains matériels d'être encore utilisables. L'entretien régulier des matériels s'avère très difficile à effectuer, vu le coût que cela peut procurer et que le budget ne pourra pas subvenir. Pour un bon fonctionnement du laboratoire pour le diagnostic et les recherches, nous pensons que tous les matériels du laboratoire devraient être rénovés. Un budget devrait être alloué à l'entretien de ces différents matériels. Tous ces équipements devraient suivre également

l'évolution de la technologie de la biologie médicale, étant donné que nos souches bactériennes subissent une évolution génotypique comme toutes les souches rencontrées partout dans le monde.

Concernant le système informatique, L'UPFRM possède un ordinateur individuel pour gérer les activités du laboratoire, surtout les activités de secrétariat. Pour l'instant, le seul système suffit à faire tourner le labo, étant donné que le laboratoire de bactériologie ne possède aucun automate et que le débit des activités est encore petit. Le système est connecté sur internet, ce qui constitue un grand avantage pour le laboratoire en matière de recherches documentaires et de communications avec les différentes institutions tant nationales qu'internationales. Nous pensons qu'une connexion interne en réseau entre les différentes UPFR s'avère nécessaire, pour confronter toutes les données biologiques possibles concernant un patient, ceci afin de faciliter la validation microbiologique, aussi de pouvoir pousser les investigations pour un diagnostic plus assuré.

Concernant quelques matériels indispensables dans un laboratoire de bactériologie, l'UPFR ne possède pas de centrifugeuse. En cas de besoin, le personnel est obligé d'aller dans d'autre laboratoire pour faire la centrifugation. Ce déplacement constitue un danger public vu le risque de contamination biologique que cela peut engendrer. C'est aussi une source de perte de temps parce que parfois, il faut attendre que d'autre technicien arrivé plus tôt finisse sa centrifugation. En bactériologie, le laboratoire doit avoir sa propre centrifugeuse et que personne d'autre n'ait pas le droit de l'utiliser. Le risque d'émanation de particules microbiennes pendant la centrifugation est énorme, ce qui augmente alors les risques de contamination biologique.

Concernant les étuves bactériologiques, elles sont toutes fonctionnelles. Ce sont des étuves destinées aux cultures en aérobiose. Les températures sont contrôlées régulièrement. Les problèmes viendraient d'une éventuelle anomalie de tout le système électrique du laboratoire du fait que le laboratoire n'est pas relié à un groupe électrogène ni à un onduleur. Nous pensons que ce genre d'installation est indispensable pour un laboratoire de bactériologie vu la nécessité d'une température constante pour la croissance bactérienne en cour de culture. Concernant les éventuelles contaminations des cultures en cours d'incubation, elles sont rares.

Concernant les réfrigérateurs, les problèmes viendraient aussi des instabilités du courant électrique du laboratoire, ce qui ne fera que des conséquences néfastes pour l'appareil lui-même et surtout pour les réactifs qui y sont conservés. Une chambre froide est préférable au réfrigérateur pour la conservation des réactifs vu sa capacité et son moindre influence en matière de changement de température en cas de coupure de secteur de courte durée.

Concernant les hottes bactériologiques, le laboratoire dispose de 2 enceintes de sécurité biologique de classe I sans filtre HEPA. Cela ne suffit pas à assurer la sécurité pour les contaminations bactériologiques (4). En plus ces hottes datent de la construction de l'établissement et leur entretien technique est presque inexistant. Seul l'entretien journalier après chaque utilisation est entrepris. Nous pensons que chaque local où l'on manipule des prélèvements biologiques doit être doté d'enceintes de sécurité d'au moins classe II, étant donné qu'un laboratoire de bactériologie manipule tous les microorganismes jusqu'au groupe de risque 4. Ces enceintes (annexes 1 et 2) sont conçues pour éviter que le manipulateur, le local du laboratoire et les matériels de travail ne soient exposés aux aérosols ou éclaboussures infectieux qui pourraient se produire lors de la manipulation de matériels biologiques contenant des agents pathogènes, comme les cultures primaires, les souches pour les cultures et les échantillons destinés au diagnostic. Les aérosols se produisent lorsqu'on secoue, verse, agite, ou fait tomber un liquide goutte à goutte sur une surface ou dans un autre liquide.

Concernant les microscopes, le laboratoire dispose de 3 microscopes binoculaires. Ces microscopes sont vieux d'une quinzaine d'années et manquent d'entretien. Nous pensons que le laboratoire mérite d'être doté de nouveaux microscopes étant donné que la microscopie est un acte de base dans le diagnostic microbiologique.

Au total, concernant l'équipement du laboratoire, l'UPFR possède tous les matériels de base pour fonctionner, à part la centrifugeuse. La plupart de ces matériels sont usés et manque d'entretien. Alors que les activités demandent une assurance qualité, une remise en état de cet équipement s'avère donc nécessaire, équipement accompagné de toutes les instructions y concernant. L'assurance qualité ne dépend pas uniquement des matériels mais aussi des réactifs et surtout de la manière dont on les utilise, guidée par les bonnes pratiques de démarche diagnostique bactériologique.

3- REACTIFS

Le laboratoire de bactériologie utilise deux types de réactifs: les produits prêts à l'emploi et les produits à préparer. La production est limitée par la disposition des réactifs de base en stock, conditionnée par un approvisionnement continu. Actuellement, cette production est destinée uniquement pour l'utilisation locale de l'UPFR. Auparavant, le laboratoire fabriquait et envoyait des milieux dans d'autres laboratoires en dehors de la capitale.

La capacité de produire des milieux de culture et réactifs sur place constitue un grand avantage pour un laboratoire de bactériologie. Cet avantage réside en plusieurs points :

- les réactifs de bases coûtent moins chers donc cela donne un grand avantage financier,
- les éventuelles anomalies des préparations peuvent être vite réparées puisque les lieux de production et d'utilisation ne sont pas éloignés,
- les contrôles de qualité peuvent être effectués à n'importe quel moment de la production jusqu'à l'utilisation,
- en cas de besoin immédiat en réactifs ou milieux de culture très spécifiques, il est possible de les fabriquer sur place à partir des réactifs de bases disponibles.

Des précautions sont à prendre concernant ces réactifs : il faut rigoureusement respecter les conditions de conservations indiquées par les fabricants, faire attention à la date d'expiration des produits. Quant à la fabrication des différents milieux de culture et réactifs, le pH est un point capital à respecter. Et une fois que les produits soient finis, des contrôles sont effectués : contrôle de stérilité, contrôle de qualité. L'établissement de fiche de traçabilité de chaque produit fini serait souhaitable. Ceci dans le but de faciliter les contrôles et de remédier aux éventuelles anomalies constatées lors des manipulations.

4- PHASE PREANALYTIQUE

La phase préanalytique est fondamentale en bactériologie. Cette phase regroupe plusieurs points : la prescription médicale effectuée par le médecin traitant, l'information des patients sur les précautions nécessaires à prendre avant d'effectuer un prélèvement, l'acte de prélèvement de l'échantillon biologique à analyser, l'acheminement de cet échantillon au laboratoire, les différentes manipulations à faire

sur l'échantillon avant l'analyse : identification, vérification de la conformité, conservation.

En bactériologie, on peut très facilement rendre des résultats erronés si cette phase n'est pas rigoureusement respectée: rendu d'une contamination ou des commensaux à la place des pathogènes par exemple.

A l'HJRA, la mise en place du Centre de prélèvement est très importante, du fait que c'est un des premiers points de contact entre les patients et l'hôpital. Les patients y analyse. Ils y préparent les divers papiers administratifs, payent les sommes destinées pour effectuer l'analyse, déposent les prélèvements quand ceux-ci ne sont pas effectués sur place. C'est aussi l'endroit où les patients récupèrent les résultats d'analyse effectuée. En quelque sorte c'est l'accueil pour le public qui vient pour les analyses médicales. Nous pensons que le système d'accueil à l'HJRA est une bonne chose. Cependant quelques points méritent d'être améliorés :

- le recueil des informations concernant le patient devrait être effectué sur un système informatique connecté avec tous les laboratoires, système permettant de focaliser en un point le dossier du patient indiquant son état civil jusqu'aux résultats d'analyses biologiques ;
- l'infrastructure réservée aux personnes handicapées devrait être prise en considération ;

Pour l'acte de prélèvement proprement dit, il faudrait revoir tous les dispositifs existants au Centre, particulièrement les mobiliers.

Concernant les prélèvements bactériologiques effectués au Centre, l'acte est effectué par des personnes expérimentées. L'existence du guide écrit de bonne exécution de recueil des échantillons bactériologiques est très important. Ce guide, étant détaillé et facile à comprendre, permet d'assurer l'obtention d'échantillons biologiques de qualité. La personne qui effectuera le prélèvement procède d'abord à la vérification de l'identité et de la nature des examens prescrits. Ensuite elle informe le malade sur le prélèvement qui va être pratiqué, puis prépare les matériels de prélèvement. Cette procédure est indispensable comme l'indiquent aussi certains auteurs. (14)

Le recueil de ces échantillons doit être effectué dans des conditions techniques d'asepsie pour éviter au maximum leur contamination par des bactéries commensales. Selon leur localisation anatomique et les signes cliniques, des techniques de

prélèvement particulières sont utilisées pour rechercher spécifiquement certaines bactéries. C'est ce que préconisent aussi certains auteurs. (15)

A l'arrivée au laboratoire, les échantillons biologiques sont vérifiés. Les non-conformités éventuelles doivent être détectées et un traitement spécifique doit leur être appliqué. Ces non-conformités sont nombreuses en raison des contraintes qui pèsent sur l'obtention d'échantillons de qualité.

Le Guide de bonne exécution des analyses (GBEA) stipule que le biologiste doit refuser tout prélèvement effectué dans des conditions incorrectes. Le biologiste est responsable des échantillons biologiques acceptés dans son laboratoire. II doit refuser techniques mises en place. Le motif de ce refus est porté à la connaissance du médecin prescripteur à l'aide d'une fiche de non-conformité signée par le biologiste, la dite fiche renvoyée par le médecin prescripteur au biologiste après signature et correction des anomalies.

II est important d'identifier et de gérer chaque non-conformité pour deux raisons:

- pour que chaque analyse soit réalisée le mieux possible,
- pour qu'une vue globale des non-conformités par unité de soin puisse être régulièrement adressée au chef de service ou au prescripteur.

Parce que des travaux menés en France en 2006 ont montré qu'entre 5 et 20% des prélèvements transmis pouvaient être non-conformes et que les erreurs étaient fréquentes à ce stade. (16)

Le fait d'appliquer rigoureusement cette procédure permet d'améliorer la qualité des échantillons biologiques.(17)

5- <u>PHASE ANALYTIQUE</u>

La phase analytique est l'étape aboutissant au diagnostic bactériologique. Plusieurs méthodes et procédés « aux normes » sont disponibles. Chaque pays adopte ce qui lui convient.

L'UPFR microbiologie de l'HJRA suit la procédure de diagnostic bactériologique classique qui comprend les étapes suivantes:

- l'examen direct,
- la culture et l'isolement sur différents milieux de culture produits par le laboratoire lui-même,
- l'identification bactérienne,

- et l'antibiogramme.

Un point important mérite d'être souligné : il n'y a aucun document écrit sur la procédure appliquée par le laboratoire et qui lui est propre. Seulement, nous avons constaté qu'elle est basée sur le GBEA français et adaptée aux conditions matérielles existantes. Le laboratoire prend aussi en considération et adopte les recommandations émises par l'OMS.

Nous pensons que l'adaptation d'une technique bactériologique devrait être validée. Or ce n'est pas le cas pour l'UPFR. Cependant, les contrôles de qualité internes et externes entrepris par le laboratoire montrent des résultats satisfaisants.

Au laboratoire, le déroulement des actes techniques est assuré par des médecins généralistes et des techniciens de laboratoire. Nous pensons qu'il serait judicieux si des biologistes intègrent l'équipe de paillasse. Cela diminuerait le risque de passer à côté du « vrai » diagnostic. Malgré cela, des formations continues garantissant leur compétence sont assurées.

Quotidiennement, ils assurent les analyses en temps normal. Cependant, un système de prise en charge des examens urgents est entrepris par le laboratoire mais il n'y a pas de garde.

Concernant l'antibiogramme, sa confection est un des objectifs de l'analyse bactériologique. Sa qualité doit être contrôlée régulièrement. L'UPFR suit les règles du Comité antibiogramme de la Société française de microbiologie pour la confection ainsi que pour l'interprétation. Quant à sa qualité, elle est contrôlée par méthode manuelle en collaboration avec l'OMS et cela constitue un point fort pour le laboratoire.

Le résultat de la phase analytique dépend fortement de la qualité des réactifs mais aussi d'une bonne application des procédures mises en place.(18)

6- PHASE POSTANALYTIQUE

Cette étape consiste en premier lieu en la validation biologique qui est destinée à vérifier la cohérence et la vraisemblance de l'ensemble des résultats des analyses d'un même patient, compte tenu de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs disponibles.

Pour l'UPFRM, la méthode de validation biologique est comparable à celle de la littérature et sous la responsabilité du biologiste. Le biologiste prend contact autant que possible avec le clinicien prescripteur en cas de besoin.

En deuxième lieu, la phase post analytique consiste en l'édition des résultats ainsi qu'en leur émission. L'édition des résultats au sein de l'UPFR s'effectue après la validation biologique effectuée par le biologiste. Les résultats sont ensuite acheminés vers le Centre de prélèvement pour les malades externes, et récupérés au laboratoire même par les servants de chaque service clinique concerné pour les malades hospitalisés. Ce système facilite et assure l'acheminement du résultat papier vers le prescripteur.

7- HYGIENE – SECURITE

Malgré l'existence de documents concernant l'hygiène et la sécurité édités par le Service d'Hygiène Hospitalière et mis à la disposition de toutes les unités de soins et paracliniques, le laboratoire a beaucoup de difficultés à mettre en œuvre toutes les recommandations prescrites. Cela vient surtout de l'irrégularité de l'approvisionnement des différents consommables.

Concernant le transport des échantillons biologiques, la formation des personnels assurant les transports et la mise en place de procédures validées et diffusées définissant la conduite à tenir en cas d'incident permettrait d'accroître le bénéfice de ces systèmes de sécurité. Le laboratoire essaie de mettre en place les informations sur les risques biologiques et leurs préventions pour le personnel et les personnes étrangères au laboratoire. Nous pensons que l'information et la formation en matière de sécurité biologique nécessite la participation de tout le monde : les personnels médicaux, paramédicaux, les patients eux-mêmes lors de leur passage au Centre de prélèvement, puisque les risques biologiques constituent un grand danger pour la santé publique.

Les dangers de contaminations biologiques sont énormes au laboratoire à cause du local qui n'est pas adapté et inadéquat. Beaucoup de monde étranger au service circule tout près du local de manipulation. Ceci doit conduire à une mise en place de normes de locaux au laboratoire.

Le laboratoire dispose de procédures écrites pour le nettoyage et la désinfection des locaux qui sont assurés par une personne formée, ainsi que pour le tri et le traitement des déchets. Les déchets à risque infectieux sont directement incinérés par une filière autorisée.

CONCLUSION

CONCLUSION

Au niveau d'un laboratoire de biologie médicale, le Directeur du laboratoire est le premier responsable sur tous les domaines : administratif, technique (soins), sécurité biologique et hygiène hospitalière. Cela nécessite des règles bien précises, règles à suivre rigoureusement, de type GBEA ou Guide de bonne exécution des analyses.

Or à Madagascar, il n'y a aucun texte réglementaire qui régit la création ou le fonctionnement d'un laboratoire de biologie médicale. Alors nous nous sommes référés aux règles étrangères (France, Suisse, OMS), et nous avons constaté durant notre dernier semestre de stage d'Internat, en Bactériologie dans un Centre Hospitalier Universitaire, que le laboratoire manque de certaines « normes » (en matière d'administration et technique). Nous avons alors procédé à la description de toutes les anomalies ainsi que les potentiels du laboratoire. Nous les avons ensuite comparé aux documents en notre possession et tiré les possibilités d'améliorations applicables par le laboratoire pour le bien des patients en premier lieu, et des manipulateurs (techniciens et tous ceux qui travaillent au laboratoire) en second.

Et une coopération clinico-biologique est absolument nécessaire pour réaliser des examens bactériologiques réellement utiles aux patients.

BIBLIOGRAPHIES

BIBLIOGRAPHIES

1- Gouvernement Français. Guide de Bonne Exécution des Analyses. Journal officiel du 11 décembre 1999

2- N. Marchal, J. L. Bourdon, F. Bimet. Le laboratoire de bactériologie médicale. 1988 : 227-338

3- J.C. Desenclos. La surveillance des maladies infectieuses et l'expertise microbiologique. Médecine et Maladie Infectieuse, 2000 ; 30 Suppl 3 : 221

4- W. E. Barkley et *al.* Manuel de sécurité biologique en laboratoire. Organisation Mondiale de la Santé, Genève Troisième Edition, 2005 :219

5- N. Marty, S. Malavaud, N. Gorecki, S. Pomies, F. Cabrespine et G. Chabanon. Trois types de surveillance épidémiologique des infections nosocomiales au CHU de Toulouse (Hôpitaux Rangueil et La Grave). Médecine et Maladies Infectieuses Volume 30, Supplément 3, May 2000 : 624-633

6- B. Koumare. OMS/ICP/CSR/WAB CD-ROM. Rôle du Laboratoire dans la surveillance épidémiologique. Ouagadougou, Burkina Faso 4-5 Juin 2003

7- L. Cuzin, C. Delpierre. Epidemiology of infectious diseases. EMC Maladies Infectieuses 2, (2005) : 157-162

8- D. De MoiJy, J. D. Cavallo, P. Weber, R. Fabre. Détection et surveillance épidémiologique des résistances bactériennes aux antibiotiques en milieu communautaire. Revue Française des Laboratoires, septembre 2001 ; N ° 335 : 31-36

9- V. Jarlier, Y. Buisson, M. Danis, A. Datry, S. Gottot. Rôle des laboratoires de microbiologie dans la surveillance des infections nosocomiales bactériennes, fongiques et parasitaires. Revue française des laboratoires, mars 1997; N° 291 : 37-42

10- G. Carret et *al.* EVALMIC. Collège de Bactériologie- Virologie, Hygiène des Hôpitaux et Société Française de Bactériologie, Paris 1998 ; 24

11-AFNOR. Norme ISO 8402, Ed. AFNOR, Paris, 1994 ; 145

12- P. Rabiller, C. Demange. Comment réussir et pérenniser l'accréditation, plaidoyer pour la qualité totale. In Gestion Hospitalière 1998; 374

13- P. Pascal, F. Beyerle. Quality standards for medical laboratories. Pathologie Biologie Volume 54, Issue 6, July 2006: 317-324

14- Y Piémont., C Rieder., I Mahoudeau., J.M Rousée., S.de Martino. Les prélèvements en bactériologie. Lettre de l'infectiologue, 2 (2000) : 54-60

15- I. Mahoudeau, C. Rieder, M. Kubina, Y. Piemont. Etape préanalytique en bactériologie. Revue Française des Laboratoires, novembre 1999 ; N ° 317 : 37-45

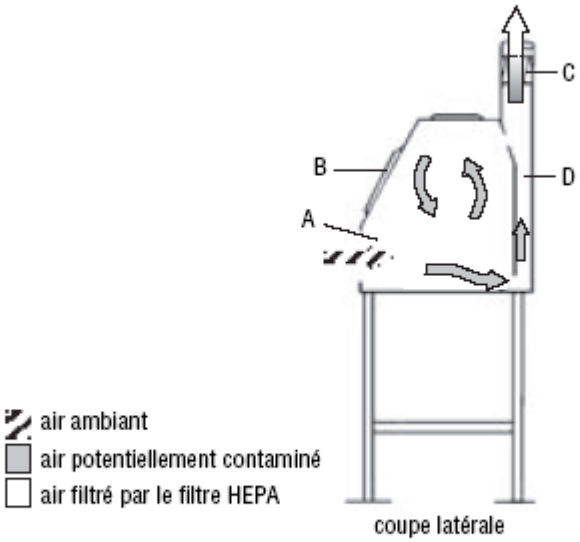
16- P. Murat. La phase préanalytique des analyses de biologie médicale. 2006 ; 123

17- F. Lalande, I. Yeni, C. Laconde. La Biologie Médicale Libérale en France : bilan et perspective. Tome I-II, Avril 2006 ; 89

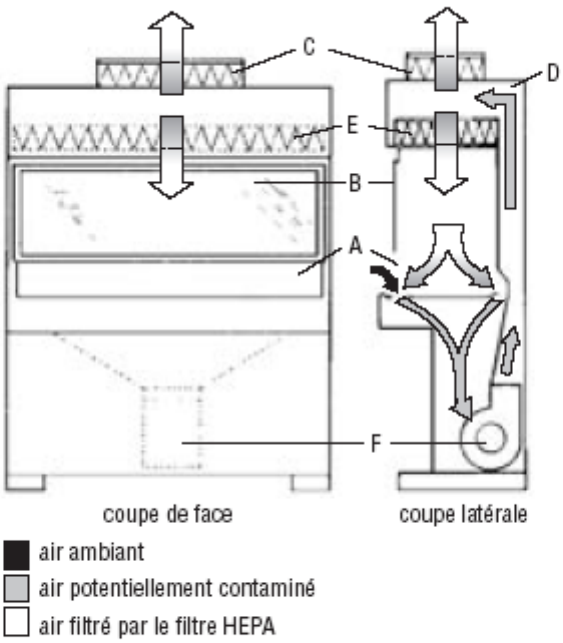
18- P. Gereme, J. Y. Dusseau, T. Masseron, R. Bercion. La phase préanalytique en bactériologie. Revue Française des Laboratoires, septembre 2001 ; N ° 335 : 23-29

ANNEXES

ANNEXES



ANNEXE 1: ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe I.***
A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA monté sur la conduite d'évacuation; D, gaine d'évacuation.



ANNEXE 2: ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1.***
A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA d'évacuation; D, chambre de distribution arrière; E, filtre HEPA d'admission; F, ventilateur.

PERMIS D'IMPRIMER

LU ET APPROUVE

Le président de Mémoire

Signé : Professeur **RASAMINDRAKOTROKA Andry**

VU ET PERMIS DIMPRIMER

Le doyen de la Faculté de

Médecine d'Antananarivo

Signé : Professeur RAJAONARIVELO Paul

Nom et prénom : ANDRIANARIVELO Andry Maharo
Titre du mémoire : Description normative d'un laboratoire public de bactériologie à Madagascar : exemple du CHU d'Antananarivo

Rubrique : BIOLOGIE **Nombre de pages : 47** **Nombre de tableaux : 2**
Nombre de figures : 2 **Références bibliographiques : 18** **Nombre d'annexes : 2**

RESUME

Le fonctionnement du laboratoire de bactériologie du CHU-JRA Antananarivo a été étudié prospectivement en se basant sur le document « EVALMIC » édité par le collège de Bactériologie-Virologie, Hygiène des hôpitaux et de la Société Française de Microbiologie (SFM), version 1.

Ce travail se propose comme objectif de tirer les meilleures méthodes afin d'améliorer la qualité du service fourni par le laboratoire.

Le chef de service essaie de mettre en place le système qualité malgré l'absence de comité officiel d'assurance qualité. Actuellement, il n'y a aucun document « démarche qualité » écrit propre à l'Unité Paraclinique de Formation et de Recherche en Microbiologie (UPFRM) ni de Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA).

Les commandes de réactifs dont le laboratoire aura besoin pendant un temps déterminé, sont sous la Direction de l'établissement voire le Ministère de tutelle après dressage de la liste par le Chef de service

Le laboratoire de bactériologie dispose de différents équipements de base pour fonctionner mais la plupart des équipements en service sont usés et mal entretenus.

L'UPFRM utilise deux types de réactifs: les produits prêts à l'emploi et les produits à préparer.

Le système d'accueil des patients est composé d'un guichet qui édite l'Avis des Sommes à Payer et un centre de prélèvement.

Les trois médecins assistants généralistes et trois techniciens de laboratoire assurent alternativement les trois paillasses du laboratoire.

Concernant la validation biologique des résultats à l'UPFRM, elle est sous la responsabilité du biologiste.

L'application du GBEA s'impose aux laboratoires pour se conformer aux normes et pour améliorer les performances globales du service.

Mots-clés : activité, norme, laboratoire de bactériologie, CHU-JRA Antananarivo
Directeur de mémoire : Professeur RASAMINDRAKOTROKA Andry
Adresse de l'auteur : Lot II F 91 Ter Andraisoro Antananarivo 101

SUMMARY

The working of the bacteriology laboratory of the CHU-JRA Antananarivo has been studied prospectivement as being based on the EVALMIC document published by the college of Bacteriology-Virology, Hygiene of the hospitals and the SFM, version 1.

This work intends like objective to pull the best methods in order to improve the quality of the service provided by the laboratory.

The chief of service tries to put the system quality in place in spite of the absence of official committee of insurance quality. Currently, there is not any document" canvasses quality" writes clean to the "Unité Paraclinique de Formation et de Recherche en Microbiologie (UPFRM)" nor "Guide de Bonne Execution des Analyses (GBEA)".

The orders of reagents, whose laboratory will have need during one determined time, are or even under the Direction of the establishment the Ministry of tutelage after schooling of the list by the Chief of service.

The laboratory of bacteriology has different facilities of basis to function but most facilities in service are used and pain kept.

The UPFRM uses two types of reagents: the ready to use products and the products to prepare.

The system of welcome of the patients is composed of a ticket window that publishes the opinion of the Sums to Pay and a center of withdrawal.

The three assistants physicians general practitioners and three technicians of laboratory assure the three works surfaces of the laboratory alternately.

Concerning the biologic validation of the results to the UPFRM, it is under the biologist's responsibility.

The application of the GBEA imposes itself at the laboratories to conform to the norms and to improve the global performances of the service.

Key-words: activity, standard, laboratory of bacteriology, CHU-JRA Antananarivo
Director of memory: Professor RASAMINDRAKOTROKA Andry
Author's address: Lot II F 91 Ter Andraisoro Antananarivo 101