

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique.



République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)

Année Universitaire 2010 - 2011

Thèse N°...../P

TITRE

**CONTRIBUTION À L'ASSURANCE QUALITÉ DANS LE DIAGNOSTIC
DU HIV AU LABORATOIRE DU CHU GABRIEL TOURÉ**

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 05 / 3 /2011

devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie
(F.M.P.O.S.)

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

Par
Mr TOURÉ Issaka

JURY

Président

Pr Sounkalo DAO

Membres

Mr Seydou S. DIARRA

Dr Samba Adama SANGARÉ

Co- directeur de thèse

Pr Souleymane DIALLO

Directeur de thèse

Pr Flabou BOUGOUDOGO

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

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

Que sa bénédiction et sa protection soient sur tous.

AMEN !

À son prophète MOHAMED paix et salut à son âme.

AMEN !

Aux fidèles de l'ISLAM.

À toutes les personnes vivant avec le VIH/SIDA.

- À mon père Issa TOURÉ

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

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

Trouve à ce modeste travail un début de récompense à tes nombreux sacrifices.

Je suis sûr que tes vœux seront exhaussés par le Tout Puissant et que tes conseils ne seront pas vains.

- À ma mère Fatoumata SIDIBÉ

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

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

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

- À ma tante Fatoumata SACKO

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

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

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

REMERCIEMENTS

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

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

Paix et salue sur le prophète MOHAMED.

AMEN !

- À mes parents

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

- À mes frères, sœurs, cousins et cousines

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

- À mes proches qui sont morts.

- À mes grands parents

- À mes tantes et oncles

Merci pour vos encouragements et vos soutiens.

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

- À mes camarades du Lycée Askia Mohamed (LAM).

- À mes camarades du laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

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

- À mes amis les plus chers

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

Merci pour votre affection et votre sincère fidélité.

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

- À mes aînés du laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ

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

-Au personnel du CHU Gabriel TOURÉ et plus particulièrement au personnel du laboratoire. Merci pour votre collaboration, votre contribution et votre esprit d'équipe.

- À tout le corps professoral de la FMPOS.

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

- À tous mes enseignants depuis le primaire.

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

- À tous les étudiants de la FMPOS

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

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

Merci

À NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY

Professeur Soukalo DAO ;

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

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

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

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

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

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

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Mr Seydou S. DIARRA

Spécialiste en microbiologie

Chef de service de bactériologie à l'INRSP

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

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

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

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Docteur Samba Adama SANGARE

Pharmacien chercheur au laboratoire de bactériologie CVD - Mali (Centre pour le Développement des Vaccins - Mali) du CHU Gabriel Touré ;

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

Honorable Maître, votre appui a été d'un grand apport dans l'élaboration de ce document ;

Votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement aux valeurs qui vous sont chères tel que le travail bien fait et le courage;

Veillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

À NOTRE MAÎTRE ET CO- DIRECTEUR DE THÈSE

Professeur Souleymane DIALLO ;

Pharmacien biologiste, Colonel des Forces Armées du Mali.

Chef du département médico-technique du CHU Gabriel TOURÉ ;

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

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

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

À NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE

Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;

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

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

Chevalier de l'ordre de mérite de la santé.

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

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

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

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

Abréviations et sigles

CDI : Consommation des Drogues Injectables.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

DPM : Direction de la Pharmacie et du Médicament.

EDS : Enquête Démographique et de Santé.

EDTA : Acide Ethylène Diamino Tétra- Acétique.

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

EPH : Etablissements Publics à caractère Hospitalier.

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale.

IMAARV : Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux.

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique.

ISAARV : Initiative Sénégalaise d'Accès aux médicaments Anti- Rétroviraux.

NASBA: Nucleic Acid System Based Assay.

PNLS : Programme National de Lutte contre le Sida.

SOPs: Standard Operating Procedures.

PLAN

1. INTRODUCTION
2. GÉNÉRALITÉS
- 2.1. ASSURANCE QUALITÉ
- 2.2. INFECTION PAR LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE
3. MÉTHODOLOGIE
4. RÉSULTATS
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS
7. ANNEXES
8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION.....	1
1.1. Objectif général	2
1.2. Objectifs spécifiques	2
2. GÉNÉRALITÉS.....	3
2.1. ASSURANCE QUALITÉ.....	3
2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d'analyse biomédicale.....	3
2.1.2. Exécution des analyses.....	14
2.1.3. Mise en place de l'Assurance Qualité.....	21
2.1.4. Documentation du laboratoire.....	25
2.2. INFECTION PAR LE VIRUS DE L'IMMUNO DEFICIENCE HUMAINE.....	26
2.2.1. Définition du Sida en Afrique.....	26
2.2.2. Caractéristiques virologiques du VIH.....	28
2.2.3. Stabilité physico-chimique.....	29
2.2.4. Transmission.....	29
2.2.5. Cellules cibles lors de l'infection du VIH et l'évolution des marqueurs..	30
2.2.6. Les moyens de diagnostic sérologique des infections par le VIH.....	31
3. MÉTHODOLOGIE.....	45
3.1. Cadre d'étude.....	45
3.1.1. Historique.....	45
3.1.2. Organisation.....	45
3.1.3. Laboratoire.....	45
3.2. Population d'étude.....	47
3.3. Type d'étude.....	48
3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	48
3.4.1. Critères d'inclusion.....	48
3.4.2. Critères de non inclusion.....	48
3.5. Aspects éthiques.....	48

3.5.1. Confidentialité.....	48
3.5.2. Risques liés à l'étude	48
3.5.3. Respect des références bibliographiques	48
3.6. Échantillonnage.....	49
3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage	49
3.6.2. Taille de l'échantillon.....	49
3.6.3. Variables étudiées.....	49
3.6.4. Collecte des données.....	49
3.6.5. Saisie et analyse des données.....	49
3.7. Conditions de sécurité au laboratoire.....	49
3.8. Optimisation des conditions opératoires.....	50
3.9. Méthode de laboratoire.....	51
3.9.1. Le prélèvement sanguin	52
3.9.2. Sérodiagnostic de HIV par le Détermine HIV-1/2.....	56
3.9.3. Sérodiagnostic du VIH par l'Immunocomb II.....	56
3.9.4. Sérodiagnostic du VIH par le Génie II.....	59
4. RÉSULTATS.....	61
4.1. Résultat d'évaluation du laboratoire.....	61
4.2. Nombre de dépistages effectués au laboratoire.....	69
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	75
5.1. Du point de vue de la méthode	76
5.1.1. Choix des tests de dépistages rapides (TDR).....	77
5.1.2. Avantages du test rapide.....	78
5.1.3. Limites des tests utilisés	78
5.1.4. Comparaison entre les tests.....	79
5.2. Du point de vue des résultats.....	80
5.2.1. Résultat de la sérologie VIH par rapport au sexe.....	80
5.2.2. Séroprévalence et évolution des sérotypes du VIH.	81
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	84

7. ANNEXES.....	85
7.1. Annexe 1. Prélèvements sanguins.....	85
7.2. Annexe 2. Test de dépistage du VIH par le réactif Determine™ HIV1/2..	89
7.3. Annexe 3. Test de dépistage du VIH par Immunocomb®	94
7.4. Annexe 4. Test de dépistage du VIH par Génie II®	102
7.5. Annexe 5. Exemple de fiche de notification.....	107
7.6. Annexe 6. Durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés.....	108
7.7. Annexe 7. Définition des termes.....	109
7.8. Annexe 8. Chronogramme des activités.....	114
8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	115

Liste des figures

Figure N°1 : Structure du VIH.

Figure N°2 : Cinétique d'apparition des anticorps anti-VIH.

Figure N°3 : Algorithme pour l'interprétation des tests de Sérologie utilisant un format de 4^{ème} génération.

Figure N°4 : Représentation schématique de la stratégie I.

Figure N°5 : Représentation schématique de la stratégie II.

Figure N°6 : Représentation schématique de la stratégie III.

Figure N°7 : Algorithme utilisé dans notre étude.

Figure N°8 : Bac de développement et peigne.

Figure N°9 : Rapport d'évaluation de Laboratoire

Figure N°10 : Répartition des patients selon le sexe.

Figure N°11 : Répartition des patients selon le statut sérologique.

Figure N°12 : Répartition des patients selon les Sérotypes des VIH.

Figure N°13: Répartition des patients selon les statuts aux cours des années 2007, 2008 et 2009.

Figure N°14 : Kit du test Détermine HIV-1/2.

Figure N°15 : Interprétation des résultats.

Figure N°16 : Validation des résultats.

Figure N°17 : Résultats du test IMMUNOCOMB II HIV1 & 2.

Figure N°18 : Kit du test Génie II HIV-/HIV-2.

Figure N°19: Validation et interprétation.

Liste des tableaux

TABLEAU N°I : Indications des stratégies alternatives.

TABLEAU N°II : Évaluation des conditions du bâtiment, fluides et généralités.

TABLEAU N°III : Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire.

TABLEAU N°IV : Évaluation des prélèvements et de l'hygiène.

TABLEAU N°V : Quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie (GBEA MALI).

TABLEAU N°VI : Évaluation des réactifs et approvisionnement.

TABLEAU N°VII : Évaluation de la qualité totale.

TABLEAU N°VIII : Évaluation des rapports d'activité, analyse et communication du VIH.

TABLEAU N°IX : Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les Appréciations.

TABLEAU N°X : Répartition des sérotypes des VIH selon les années 2007, 2008 et 2009.

TABLEAU N°XI : Répartition des patients selon le statut Sérologique par rapport au sexe.

TABLEAU N°XII : Durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés.

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

1. INTRODUCTION.

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

Au Mali, le Ministère de la Santé a entrepris depuis 1996 un vaste programme de développement sanitaire afin de donner aux populations, un niveau de santé qui leur permet de mener une vie socialement et économiquement productive. L'objectif principal de ce programme était de garantir la viabilité du système de santé et la qualité des prestations. [1]

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

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

Nous la voulons appliquée au diagnostic de l'infection par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH). C'est pourquoi nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

1.1. OBJECTIF GÉNÉRAL

Contribuer à l'assurance qualité dans le diagnostic sérologique du VIH au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

1.2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES :

- Étudier l'assurance qualité dans le domaine de la biologie médicale ;
- Évaluer le laboratoire ;
- Effectuer le diagnostic sérologique du Virus de l'Immunodéficience Humaine ;
- Analyser les résultats de 2007 à 2009 ;
- Gérer les déchets biomédicaux du laboratoire.

2. GÉNÉRALITÉS :

2.1. ASSURANCE QUALITÉ.

2.1.1. Règles de fonctionnement du laboratoire d'analyse biomédicale.

2.1.1.1. Organisation.

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

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

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

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

➤ Responsabilités de l'administration

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

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

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

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

➤ **Obligations des responsables du laboratoire**

❖ **Concernant le personnel :**

- établir un organigramme du laboratoire ;
- s'assurer que le personnel est apte aux tâches qui lui sont confiées et assurer la formation nécessaire à cet effet ;
- s'assurer que chaque opération réalisée au laboratoire est confiée à une personne présentant la qualification, la formation et l'expérience appropriées ;
- mettre à la disposition du personnel les procédures et modes opératoires ;
- informer le personnel de la mise en place de toute nouvelle procédure et mode opératoire et de leur(s) modification(s) ultérieure(s) éventuelle(s). [3]

❖ **Concernant les procédures :**

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

- conserver un fichier chronologique de toutes les procédures ;
- veiller à la réalisation, par un personnel qualifié et compétent, de l'exécution du programme d'assurance de qualité défini par le guide ;
- procéder, en cas de dysfonctionnement révélé par les contrôles de qualité, à toutes les opérations susceptibles de corriger les anomalies et s'assurer de l'enregistrement des mesures correctives entreprises et évaluer leurs résultats ;
- s'assurer de la gestion des archives.

❖ **Concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits fongibles et les réactifs :**

- s'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels ;
- s'assurer que les produits fongibles sont appropriés ;
- s'assurer que les réactifs sont disponibles, non périmés, conservés dans les conditions définies par le fabricant et conformes à la réglementation en vigueur ;
- s'assurer que les installations, l'équipement, les produits fongibles et les réactifs utilisés sont adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques ;
- s'assurer que les logiciels utilisés, soit pour le fonctionnement des appareils, soit pour l'aide à l'interprétation des résultats, sont protégés de toute intrusion non autorisée et adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques.

❖ **Concernant la sécurité des personnels :**

- s'assurer que les mesures concernant la santé, la sécurité des personnels et la protection de l'environnement, notamment l'interdiction de fumer et l'interdiction d'introduire, de conserver et de consommer des denrées alimentaires dans les locaux de prélèvements, de réception des prélèvements et d'analyses, sont appliquées conformément aux textes en vigueur et, le cas

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

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

➤ **Obligations du personnel de laboratoire**

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

➤ **Compte rendu d'analyse**

Le biologiste ou le responsable du laboratoire doit, en accord avec les dispositions réglementaires :

- valider les résultats des examens biologiques après s'être assuré que leur exécution est conforme aux recommandations du guide ;
- signer les comptes rendus d'analyses ;

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

2.1.1.2. Locaux.

➤ Aménagement, accessibilité et entretien

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

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

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

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

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

➤ Sécurité

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

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

Les risques chimiques, microbiologiques ou radioactifs sont confinés.

2.1.1.3. Équipements.

Un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer du matériel adéquat et doit s'équiper de tout le matériel nécessaire en fonction des analyses, y compris les analyses d'urgence qu'il déclare effectuer.

Le biologiste doit s'assurer du respect des modalités d'installation, de fonctionnement et d'entretien préconisées dans la notice du fabricant des matériels et des automates présents dans le laboratoire. [1]

➤ Équipements de base

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

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

- un générateur d'eau distillée ou désionisée.
- un dispositif de gestion des déchets biomédicaux ou la possibilité d'accès à ce dispositif.

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

➤ **Équipements par spécialités**

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

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la biochimie :**

- un dispositif permettant le dosage du sodium et du potassium ;
- un dispositif d'électrophorèse permettant l'étude qualitative et quantitative des protéines et des lipoprotéines pour les laboratoires pratiquant ces analyses ;
- un dispositif permettant l'application des méthodes immunochimiques ;
- un dispositif permettant le dosage des gaz du sang et la détermination du pH sanguin pour les laboratoires pratiquant des analyses pour des établissements de santé si ces déterminations ne sont pas effectuées dans les établissements eux-mêmes.

Ces dispositifs peuvent être inclus dans des automates prévus à cet effet. [1]

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la microbiologie (bactériologie et virologie, de la mycologie et de la parasitologie) :**

- un dispositif permettant la centrifugation en nacelles étanches ;
- deux étuves à températures réglables, dont une à CO₂ ;
- un dispositif permettant de produire et d'entretenir une atmosphère appauvrie en oxygène et/ou enrichie en dioxyde de carbone dans une enceinte appropriée ;
- pour les laboratoires pratiquant l'identification et, le cas échéant, les antibiogrammes des agents infectieux (mycobactéries, *chlamydiae* et certains virus) une hotte de confinement doit être adaptée ;

- un congélateur à -80 °C et un microscope inversé pour les laboratoires pratiquant les cultures virales ;
- un micromètre oculaire étalonné pour la parasitologie ;
- une lampe de Wood, des curettes...

❖ Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de l'hématologie clinique et biologique (cytologie sanguine et hémostase)

- un congélateur à -30 °C ou un congélateur à -20 °C selon les exigences des examens pratiqués;
- un dispositif permettant le comptage des éléments figurés dans le sang (y compris les cytomètres de flux, des pipettes de dilution appropriées et des cellules à numération) ;
- un dispositif permettant la coloration des lames ;
- un dispositif permettant la détermination de l'hématocrite ;
- un dispositif permettant la mesure de la vitesse de sédimentation des hématies;
- deux chronomètres permettant de mesurer des temps compris entre zéro et trente minutes avec une précision au moins égale à la seconde ;
- un dispositif permettant la mesure du temps de saignement ;
- un dispositif permettant les examens en hémostase ;
- un dispositif permettant l'électrophorèse des hémoglobines ;
- un hémoglobinomètre.

❖ Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de l'immuno-hématologie :

- un jeu de plaques d'opaline ou de plastique translucide ou un système de plaques à usage unique ;
- un dispositif permettant de pratiquer la détermination des groupes sanguins dans le système ABO, les phénotypes Rh et Kell, et la recherche des agglutinines irrégulières, le cas échéant.

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens relevant de la séro- immunologie :**

- un dispositif permettant l'application des méthodes immunochimiques au dosage des antigènes ;
- un agitateur de type Kline à mouvement circulaire (100 tours par minute), si la ou les techniques utilisées le nécessitent ;

❖ **Pour les laboratoires autorisés à pratiquer les examens in vitro utilisant des éléments radioactifs :**

- les locaux et le matériel doivent être conformes à la réglementation spécifique en vigueur. [1]

2.1.1.4. Petits matériels.

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

2.1.1.5. Réactifs et consommables.

Les réactifs et les consommables doivent être certifiés conformes.

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

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

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

2.1.1.6. Secrétariat.

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

Le système informatique doit comprendre des dispositifs efficaces de protection contre toute tentative d'accès par des personnes non autorisées. Toute modification des informations ou des programmes ne peut être effectuée que par

une personne autorisée et identifiée. La trace d'une modification d'un programme doit être conservée.

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

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

2.1.1.7. Gestion des déchets biomédicaux.

La gestion des déchets doit être conforme à la législation et à la réglementation. La filière d'élimination des déchets doit être conduite de manière à ne pas compromettre la santé et la sécurité du personnel du laboratoire, ainsi que celles du personnel de collecte et à ne pas polluer l'environnement. La procédure se fait par collecte, tri puis destruction des déchets. Les laboratoires doivent disposer d'un incinérateur à cet effet, même à distance du site de l'établissement.

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

➤ Élimination des déchets de prélèvements

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

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

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

Ces déchets sont séparés en deux groupes :

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

❖ **Les déchets à risques sont séparés en trois groupes :**

- déchets potentiellement contaminés : déchets d'activité de soins à risques infectieux y compris les restes d'échantillons biologiques analysés, les déchets piquants ou coupants, les produits sanguins et les déchets anatomiques ;
- produits toxiques ou chimiques ;
- produits radioactifs.

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

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

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

2.1.2. Exécution des analyses.

2.1.2.1. Procédures et Modes Opératoires.

➤ **Généralités**

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

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

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

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

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

➤ **Applications**

Les procédures et modes opératoires disponibles concernent les points suivants :

- les instructions relatives à la préparation du patient et aux modalités du prélèvement ;
- le choix du récipient destiné à recevoir l'échantillon ;
- le mode de prélèvement ;
- l'identification du patient et de l'échantillon : nom patronymique, prénom, nom marital, sexe, date de naissance ;
- le transport éventuel des échantillons ;

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

2.1.2.2 Échantillons.

➤ Prélèvements des échantillons

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

La fiche de demande d'examen accompagnant l'échantillon doit comporter tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats, en particulier pour certaines maladies dont le sida. Un modèle de ces fiches figure en Annexes 5.

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

et à la nécessité de préciser au biologiste ou au responsable du laboratoire tout incident survenu au cours du prélèvement.

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

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

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

➤ **Identifications des échantillons**

❖ **Tubes ou récipients primaires :**

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

des renseignements précités ou si la confidentialité l'exige, le tube portera seulement le numéro d'identification joint à une fiche de renseignement.

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

❖ Tubes ou récipients secondaires :

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

➤ Transport et transmission des échantillons :

Le transport des échantillons doit respecter des règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels. Le transport des échantillons biologiques doit s'effectuer le plus rapidement possible au laboratoire en prenant toutes les précautions pour éviter les risques de contamination et de dégradation des constituants.

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

➤ Conservation des échantillons

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

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

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

Après exécution des analyses, les échantillons peuvent être conservés pour permettre une comparaison ou une vérification ultérieure. Cette conservation est d'ailleurs obligatoire pour certains examens précisés en Annexe 6

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

2.1.2.3. Validation des résultats.

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

➤ Validation analytique (responsabilité technique)

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

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

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

décharge pas le biologiste de sa responsabilité en matière de validation biologique pour chaque compte rendu. [1]

2.1.2.4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses.

➤ Expression des résultats

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

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

➤ Comptes rendus d'analyse et signature

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

2.1.2.5. Transmission des résultats.

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

Les résultats d'analyses sont remis comme suit :

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

- au médecin prescripteur, lorsque le patient est hospitalisé ;

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

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

2.1.3. Mise en place de l'Assurance Qualité.

2.1.3.1. Mise en place de la démarche qualité.

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

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

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

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

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

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

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

❖ Quant au personnel :

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

❖ Quant aux procédures et modes opératoires :

- de leur validation ;

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

❖ **Quant au contrôle de qualité :**

- de la gestion du programme de contrôle de qualité externe et interne du laboratoire ;
- de la bonne utilisation des données fournies par le contrôle de qualité et de la correction des anomalies ;
- de l'information du biologiste ou du responsable du laboratoire, des constatations et des observations relatives au système d'assurance de qualité ;
- de l'application des mesures consécutives à un retrait éventuel de réactifs par la Direction de la Pharmacie et du Médicament ;
- de la maintenance, du bon fonctionnement des appareillages ;
- de la bonne tenue des documents qui concourent à la traçabilité, notamment ceux concernant les réactifs et la période d'utilisation de chaque lot ;
- d'un système d'assurance de qualité au moins équivalent auprès des laboratoires travaillant en collaboration avec le laboratoire et auxquels sont transmis des échantillons aux fins d'analyses ;
- de la mise en œuvre d'évaluations internes.

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

- de la mise en œuvre des procédures opératoires concernant la sécurité des données ;
- de la confidentialité et du respect des procédures d'accès ;
- du respect de la réglementation et de l'information des patients ;
- du respect des procédures de télécommunication et transmissions électroniques ;

- de la conservation des registres et fichiers des traces du système informatique.

2.1.3.3. Évaluation externe de la qualité.

➤ Contrôle de qualité national.

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

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

Une participation rigoureuse, reflétant la pratique du laboratoire, est indispensable pour l'utilité de cette évaluation. Les résultats de celle-ci seront en effet très importants pour l'analyse globale qui sera effectuée au niveau national. Les résultats individuels et globaux de l'évaluation externe de la qualité sont analysés collectivement par toute l'équipe du laboratoire afin de remédier aux erreurs qui pourraient être objectivées. L'étude critique des anomalies détectées par le contrôle de qualité peut induire la remise en cause de la méthode utilisée au laboratoire. Il peut aussi être utile d'engager un dialogue avec les responsables du contrôle de qualité pour éclaircir les raisons d'un résultat discordant inexpliqué. Une trace des décisions induites par les résultats de l'évaluation externe de la qualité doit être conservée en même temps que sont archivés les comptes rendus individuels du laboratoire pendant cinq ans.

La rigueur de cette démarche se justifie parce qu'elle aboutit à une bonne information des biologistes sur la qualité de leurs prestations. Ces informations permettent aux biologistes de corriger les anomalies mises en évidence. Lorsque les résultats du contrôle de qualité d'un laboratoire présentent des anomalies répétées ou importantes au regard de leur utilisation médicale, le cas de ce

laboratoire est soumis anonymement à la commission chargée du contrôle de qualité qui se prononce sur le caractère de gravité de ces anomalies. Lorsque celles-ci sont jugées graves, le laboratoire est obligatoirement signalé au département de tutelle par le directeur de la pharmacie et du médicament. [1]

➤ **Autres contrôles de qualité.**

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

2.1.3.4. Évaluation interne de la qualité.

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

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

2.1.4. Documentation du laboratoire.

2.1.4.1. Rapports d'activités du service et publications.

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

2.1.4.2. Résultats nominatifs des analyses.

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

2.1.4.3. Registres de laboratoire.

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

2.1.4.4. Normes et procédures.

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

2.1.4.5. Résultats des contrôles de qualité et corrections.

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

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

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

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

2.1.4.7. Dossiers administratifs.

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

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

2.2. INFECTION PAR LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH).

2.2.1. Définition du sida en Afrique.

Le terme de SIDA fut l'objet de nombreuses confusions et contestations ; enfin la définition a été donnée arbitrairement car elle l'a été quand l'agent pathogène était encore mal connu et à des fins de surveillance épidémiologique. En effet, c'est grâce aux progrès de la biologie, notamment en 1983 et en 1985 respectivement date de la mise en évidence du virus responsable et date du développement de la sérologie qu'on a pu établir la définition du SIDA. En 1985 l'OMS a essayé de donner une définition du SIDA en Afrique au cours de sa réunion qui s'est tenue du 22 au 25 octobre à Bangui, appelée définition de Bangui. [4] Selon cette définition un malade a le SIDA s'il présente au moins 2 signes majeurs et un signe mineur chez les adultes. Un enfant serait malade de SIDA s'il a au moins 2 signes majeurs et 2 signes mineurs et cela est valable dans les deux cas en dehors de toute autre cause d'immunodéficience tels le cancer, la malnutrition etc.

2.2.1.1. Chez l'adulte.

- Signes majeurs :

Perte de poids supérieure à 10%

Diarrhée chronique supérieure à 1 mois

Fièvre prolongée supérieure à 1 mois

- Signes mineurs :

Toux supérieure à 1mois

Dermatites prurigineuses généralisées

Zona récidivant

Candidose oro-pharyngée

Herpès virose chronique

Lymphoadénopathie généralisée

Fatigue permanente

Sueurs nocturnes.

2.2.1.2. Chez l'enfant.

- Signes majeurs :

Perte de poids supérieure à 10%

Diarrhée chronique supérieure à 1 mois

Fièvre prolongée ou intermittente supérieure à 1 mois

- Signes mineurs :

Toux persistante

Dermatites prurigineuses généralisées

Candidose oro- pharyngée

Infections banales récidivantes (otites, pharyngites.)

Infection à VIH confirmée chez sa mère

Lymphoadénopathie généralisée. [4]

2.2.2. Caractéristiques virologiques du VIH.

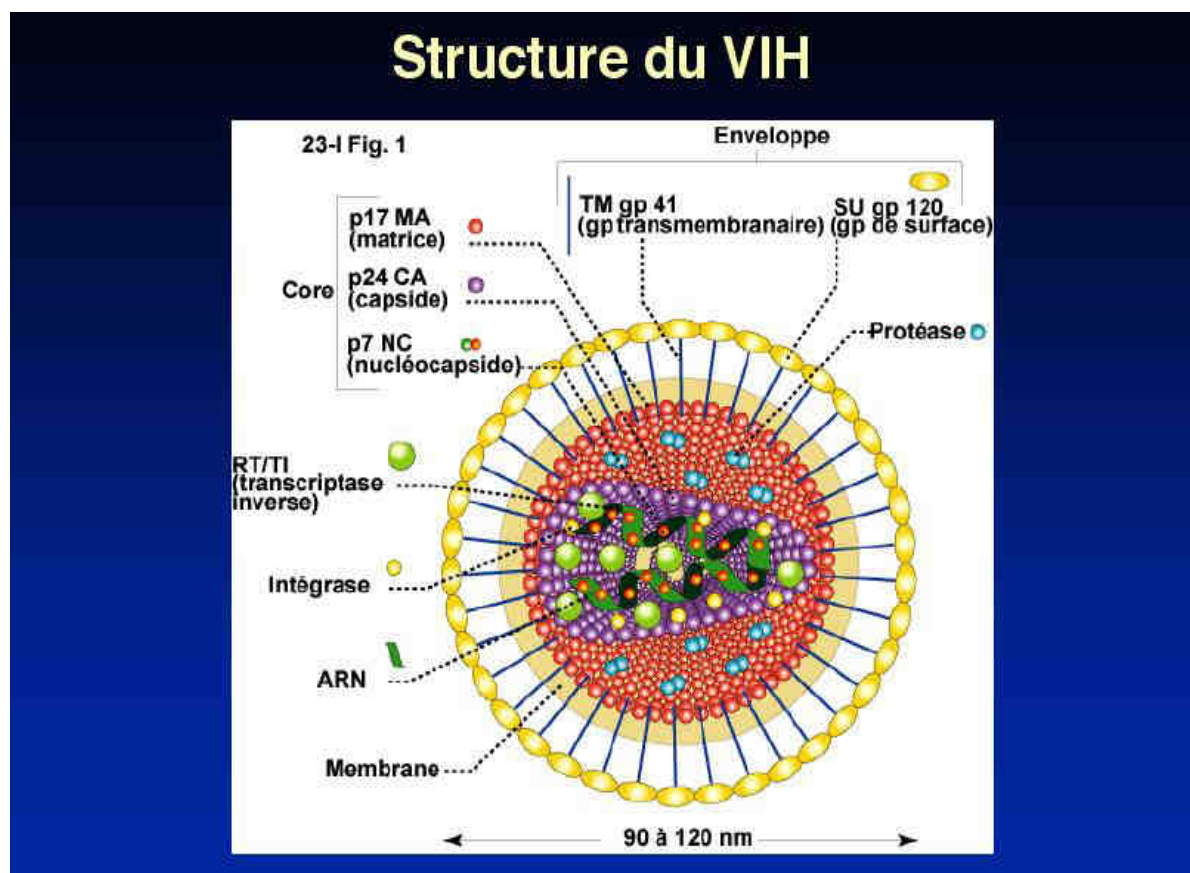


Figure N°1 : Structure du VIH.

Source : référence [5]

Le VIH est un virus enveloppé possédant, une nucléocapside dense excentrée quelquefois en forme de trapèze ou de barreau. En microscopie électronique, les deux virus présentent une morphologie similaire. La nucléocapside est constituée par des protéines internes du virus, la transcriptase inverse et de l'ARN viral. [5]

2.2.3. Stabilité physico-chimique.

Comme tout virus enveloppé, le VIH est sensible aux solvants des lipides et aux détergents (1 % triton x 100, 0,5 % désoxycholate de sodium). Il est sensible à la chaleur puisqu'il est inactivé par chauffage à 56° C pendant 30 minutes. Le VIH

est également inactivé en 5 minutes par l'hypochlorite de sodium à 0,2 %, l'éthanol à 70 % et le glutaraldéhyde à 0,2 %. [6]

2.2.4. Transmission.

La prédominance d'un mode de transmission est influencée par des facteurs géographiques et socio-économiques.

2.2.4.1. Voie sexuelle.

- Le mode hétérosexuel (homme femme)

Dans le monde entier ce mode devient plus important que les seringues

En Afrique il est de loin le plus important, la transmission hétérosexuelle se fait par la présence du virus dans le sperme, les sécrétions vaginales, dans les salives.

Actuellement les femmes sont les plus touchées.

- Le mode homosexuel (homme homme)

Il est plus risquant que le mode hétérosexuel car à ce niveau de l'intestin il n'y a pas de chaîne ganglionnaire qui peut empêcher la propagation du virus.

2.2.4.2. Voie parentérale.

- Transmission sanguine

Le sang peut transmettre en Afrique beaucoup de maladies (hépatite, syphilis etc.)

Il faut transfuser du sang sécurisé

- Consommation des drogues injectables (CDI) du fait de l'utilisation en commun.
- Accidents dus à des piqûres par des aiguilles infectées

2.2.4.3. Voie périnatale ou verticale.

- In utero au cours du travail et de l'accouchement
- post-partum durant l'allaitement. [7]

2.2.5. Cellules cibles lors de l'infection du VIH et l'évolution des marqueurs.

2.2.5.1. Cellules cibles.

Le VIH doit infecter une cellule hôte afin de se répliquer. Pour cela, des protéines constitutives de son enveloppe doivent interagir avec des molécules de surface cellulaires appelées récepteurs et corécepteurs : le principal étant le récepteur CD4. Ainsi, les cellules cibles du VIH sont celles qui présentent à leur surface la molécule CD4 : les lymphocytes T CD4⁺ ou T helper, les monocytes/macrophages et autres cellules de la même origine que les monocytes et les macrophages, telles que les cellules folliculaires dendritiques, présentes dans les centres germinatifs des ganglions et les cellules de Langerhans. [8]

2.2.5.2. Cinétique des anticorps.

Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps et de l'antigène p24 est indispensable à l'interprétation des tests de dépistage du VIH. La figure ci dessous résume les différentes situations. Après la contamination, le virus est détectable sous sa forme d'acide ribonucléique (ARN) dès le 10-12^e jour et sous sa forme d'antigène p24 représentant juste une fraction du virus, vers le 12-14^e jour. Les premiers anticorps sont détectables vers le 21^e jour. Cette cinétique peut varier en fonction de chaque patient et aussi de la souche infectante. La positivité des tests de dépistage dépend donc de l'apparition des anticorps. Actuellement, les tests de dépistage utilisés en Occident sont le plus souvent capables de détecter, en plus des anticorps, simultanément, la fraction "antigène p24". L'utilisation de ces tests raccourcit donc la période de "silence sérologique" lors de la primo-infection. Une fois produits par la réponse immune, les anticorps anti-VIH persisteront toute la vie du patient. [8]

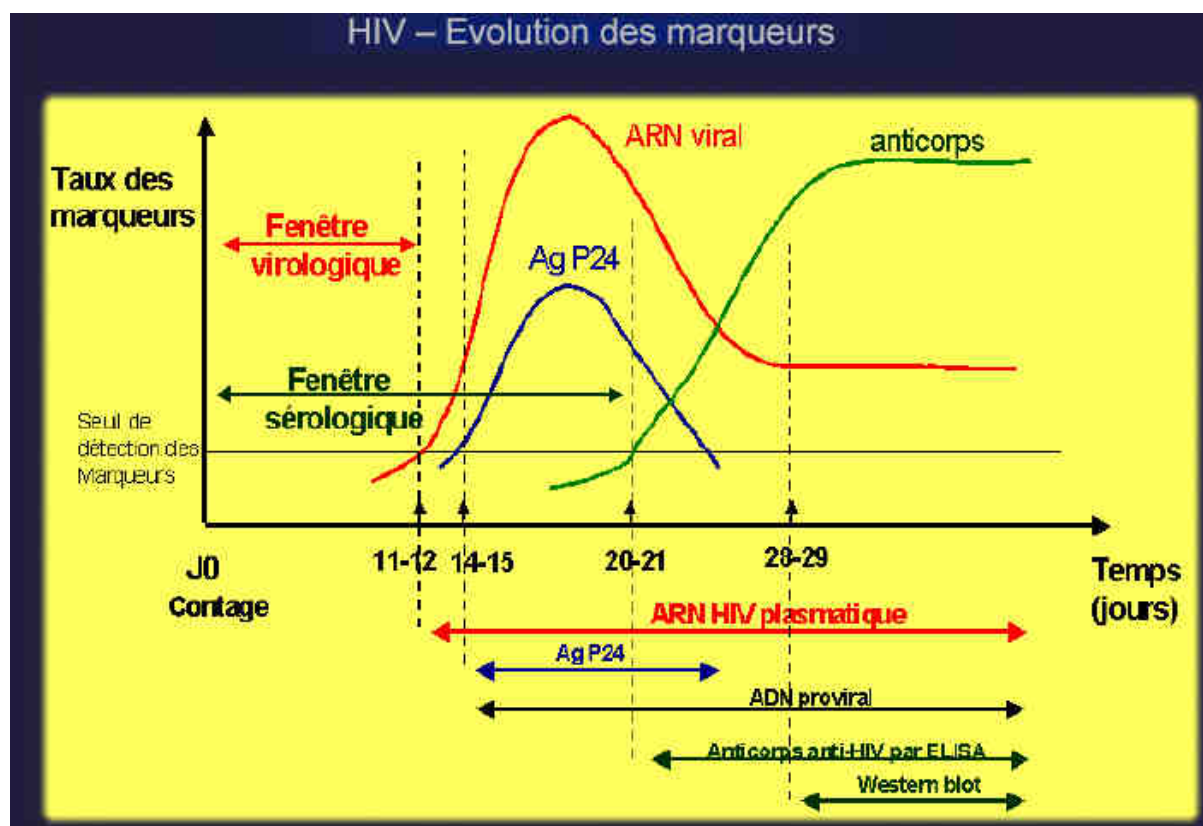


Figure N°2 : Cinétique d'apparition des anticorps anti-VIH.

Source : référence [8]

2.2.6. Les moyens de diagnostic sérologique des infections par le VIH.

2.2.6.1. Tests de dépistage.

Le diagnostic virologique de l'infection à VIH est avant tout un diagnostic sérologique basé sur la recherche d'anticorps anti-VIH par méthode immuno-enzymatique (ELISA) ou autre méthode immunologique de sensibilité équivalente. Ceci est dû à la présence constante des anticorps anti-VIH détectables dès les premières semaines qui suivent la contamination, et à la praticabilité du dépistage sérologique. La législation oblige à pratiquer en biologie médicale deux tests de dépistage différents pour chaque sérum testé afin de pallier d'éventuelles carences soit de réactif soit de manipulation. Les réactifs de dépistage utilisés sont essentiellement mixtes, c'est-à-dire capables de détecter les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2. [9]

Le diagnostic des infections à VIH repose chez l'adulte sur la détection des anticorps. Le développement des techniques de biologie moléculaire ne permet pas pour l'heure de remplacer les techniques sérologiques qui restent partout dans le monde les techniques de références pour le dépistage et la confirmation des infections à VIH de l'adulte. Seul le diagnostic précoce dans les premiers mois de vie chez l'enfant né de mère séropositive nécessite la mise en évidence du virus, de ses composants ou de son génome. [8]

La diversité des VIH complique le diagnostic sérologique.

Il existe deux types d'infection, par VIH-1 et VIH-2, qui ont une prise en charge spécifique. Le diagnostic de différenciation entre les deux types est fondamental. Ces virus proviennent de passages accidentels de virus de singes (SIV) dans l'espèce humaine.

- Le VIH-1 est divisé en 3 groupes, M, N, et O. Le groupe M (pour Majeur) est responsable de la pandémie actuelle, les autres groupes étant rares. Le groupe Majeur est subdivisé en une dizaine de sous-types (A à K) et souches recombinantes. Le sous-type B est le plus répandu en Occident, dans les populations homosexuelles et toxicomanes.

En Afrique centrale, tous les sous-types sont représentés. Le sous types A et la forme recombinante entre les sous-types A et G, dite CRF02, sont responsables d'un grand nombre d'infection en Afrique de l'Ouest. Les sous types C et D sont majoritaires en Afrique de l'Est et en Afrique du Sud.

Le virus du groupe O (pour Outlier), peu fréquents, sont trouvés presque exclusivement en Afrique centrale (Cameroun, Gabon, Guinée-équatoriale).

- Pour le VIH-2, plusieurs sous-types ont été décrits. Seuls les sous-types A (Cap-Vert, Guinée-Bissau, Guinée, Sénégal) et les sous-types B (Côte d'Ivoire, Mali et le Burkina-Faso) ont une diffusion épidémique.

Les tests de dépistage, basés sur des antigènes du VIH-1 de sous-type B d'Occident et du VIH-2 de sous type A peuvent présenter une sensibilité moindre pour la reconnaissance des autres sous-types, particulièrement lors de la

primo-infection ou d'infection par des variants très « distants », comme le VIH-1 du groupe O. [8]

Il existe désormais de très nombreux tests disponibles pour la détection des anticorps anti-VIH. Ils reposent sur des concepts différents (tests indirects, tests sandwich, tests compétition,...), des supports différents (microplaques, microparticules, immunofiltres,...), une technologie différente (technologie microplaque classique, automates, tests unitaires,...). A coté des tests ELISA, des tests d'agglutination (particules de gélatine sensibilisées) sont également disponibles. [9]

❖ **Principe des tests de dépistage**

Le dépistage des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 s'effectue le plus souvent par des tests dits ELISA (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay) ou par des tests rapides utilisant comme antigènes des lysats viraux ou des protéines recombinantes ou synthétiques. Ces protéines correspondent aux épitopes immuno-dominants des 2 virus VIH-1 du sous-type B (souche LAI, MN.) et VIH2 du sous-type A (souche ROD). Ces tests mixtes sont donc capables de dépister les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

❖ **Plusieurs formats de tests sont disponibles :**

Les tests ELISA :

Les tests EIA indirect : la fixation des anticorps du patient sur les antigènes du kit est révélée par une anti-globuline humaine anti-IgG marquée par une enzyme ce sont des tests robustes, peu sensibles aux variations des épitopes des variants VIH surtout si les antigènes sont du lysat viral. Mais ils manquent de sensibilité lors de la primo-infection car ils sont incapables de détecter les iso types d'immunoglobulines non G. Leur spécificité est médiocre, les immunoglobulines non spécifiques pouvant se fixer sur le support solide et être révélées par l'anti-globuline marquée.

- **les tests EIA “sandwich” :** la révélation de la réaction antigène du kit anticorps anti-VIH du patient se fait non plus par une anti-globuline mais par

un antigène marqué, en fixant sur les sites anticorps restés libres. Ce sont les tests les plus sensibles pour la détection des anticorps anti-VIH du sous-type B lors de la séroconversion. La spécificité est également excellente. Ils sont les plus utilisés dans le cadre du dépistage des dons du sang. Ils peuvent être pris en défaut lors d'infections par des variants majeurs comme les VIH-O et manquent de sensibilité lors des séroconversions par les variants non-B.

- **les tests EIA par immunocapture** : les immunoglobulines du patient se lient par leur extrémité Fc à des antiglobulines anti-Fc de la phase solide. La révélation de liaison se fait par des antigènes marqués, se fixant sur les sites Fab des anticorps restés libres. Ils permettent de détecter des immunoglobulines même en cas de forte dilution dans des milieux comme l'urine ou la salive. Cependant ils sont légèrement moins sensibles que les tests de troisième génération lors des séroconversions mais leur spécificité est bonne.
- **les tests EIA par compétition** : utilisent la différence d'affinité pour un antigène entre les anticorps anti-VIH du patient et un anticorps anti-VIH marqué par une enzyme. Les tests par compétition commercialisés utilisent uniquement des antigènes VIH-1 du groupe M. Ces tests sont hautement spécifiques. En cas de forte réactivité, l'infection VIH-1 groupe M est certaine. Les infections par VIH-2 et VIH-O sont non ou mal détectées et cette spécificité peut être utilisée pour différencier le type de souche infectante.

Les tests rapides : ce sont le plus souvent des tests par filtration du sérum sur une membrane ou un support recouvert d'antigènes recombinants VIH-1 et VIH-2. Ils ne nécessitent aucun équipement et sont réalisées à moins de 30 minutes. La simplicité d'emploi leur assure une large diffusion dans les pays en voie de développement. D'autres tests de réalisation simples sont les tests par agglutination de particules sensibilisées aux antigènes VIH. Ils sont généralement sensibles et de réalisation simple mais l'interprétation peut être

parfois difficile. De réalisation unitaire et rapide, ils sont faciles d'exécution. Pour l'ensemble de ces tests, l'absence de résultats quantifiés et enregistrés sur support papier sont des obstacles à la traçabilité des manipulations. [9]

ELISA sandwich (A) : La microplaque est recouverte d'un antigène connu spécifique (Ag), ici de l'antigène VIH. Le sérum du patient est déposé ; les anticorps anti-VIH présents se fixeront sur l'Ag. Un autre antigène spécifique VIH, marqué par une enzyme E (Ag-E = conjugué) est ensuite ajouté pour « prendre en sandwich » les anticorps fixés. Le complexe est ensuite révélé par une réaction enzymatique colorée, à l'aide d'un substrat de l'enzyme E.

ELISA indirect (B) : L'unique différence avec le test sandwich est l'utilisation comme conjugué d'un anticorps anti-Ig humaine marqué par une enzyme E (anti-Ig-E), et non plus d'un antigène spécifique VIH marqué. [8]

- les tests rapides disponibles au laboratoire :

Exemples :

Les tests rapides non discriminants avec une sensibilité élevée

DétermineTM HIV-1/2, Cypress Diagnostics[®], Swirft[®], Clearview Complete[®] HIV -1/2, Hexagon[®] HIV, Hema. Strip[®] HIV, Vikea[®]

Les tests rapides discriminants avec une spécificité élevée

ImmunoComb II[®] HIV -1/2, - Génie II[®] HIV-/HIV-2

- Évolution des tests rapides

Détermine™ HIV-1/2

Actuellement c'est un test immunologique qualitatif rapide in vitro pour la détection des anticorps humains du VIH-1 et VIH-2, de plus il est capable de détecter toute les sous types connus du VIH.

ImmunoComb II® HIV-1/2

Ce test a un niveau excellent, et présente beaucoup d'avantages:

- La détection de la séroconversion
- La détection de l'antigène P24
- Le signal de séparation pour l'antigène P24 et anticorps du VIH
- Permet de différencier l'anticorps VIH-1 et VIH-2
- La détection de tous les types et sous types du VIH 1
- En plus de la détection des anticorps VIH-1/2, cet excellent Kit de 4ème génération est capable de détecter le VIH-1 antigène P24, ceci à une période très précoce de l'infection entre le 7-10 jours.

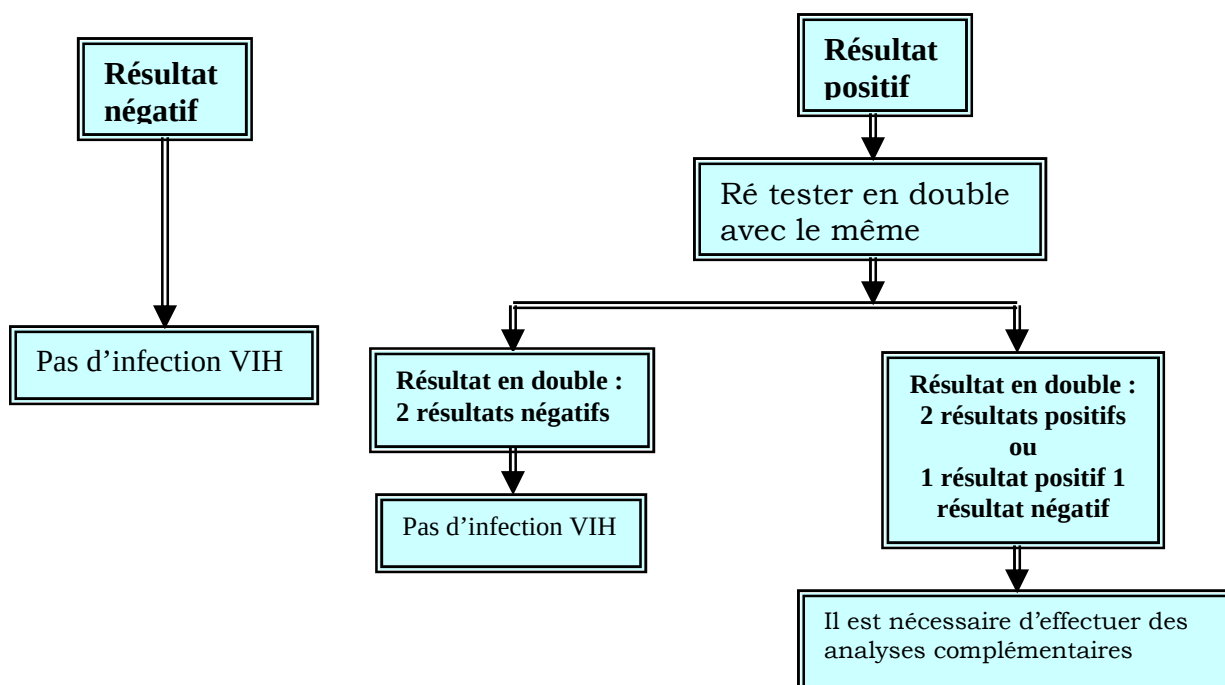


Figure N°3 : Algorithme pour l'interprétation des tests de Sérologie utilisant un format de 4^{ème} génération. [9]

2.2.6.2. Tests de confirmation.

La technique de Western Blot (WB) est une méthode de référence mais son interprétation peut être délicate. Le recours au WB pour une confirmation VIH n'est pas systématique dans tous les pays, y compris dans les pays industrialisés. Elle est parfois informative permettant d'évoquer une séroconversion récente ou une infection par des variantes. Le plus souvent en cas d'infection à VIH, le WB sera pleinement réactif et donnera peu d'information complémentaire. Inversement, en cas de non infection, des réactivités non spécifiques sont fréquentes et d'interprétation difficile. Aussi des alternatives au WB sont nécessaires pour éviter un recours systématique à cet examen coûteux. Le WB est une technique de transfert sur la nitrocellulose, après migration électrophorétique en gel de polyacrylamide, de protéines d'un lysat viral VIH-1 ou VIH-2. Sur la bandelette de WB. Différentes protéines constitutives des virus seront reconnues par des anticorps spécifiques anti-VIH-1 ou VIH-2.

Les immunoblots utilisant des protéines de synthèse : ces tests de commercialisation récente et d'un coût aussi élevé que celui du WB proposent différentes protéines recombinantes ou peptidiques sous forme de strip sur bandelette ou de spot sur support plastique. Ces tests ne sont qu'une présentation sur un format différent des antigènes de synthèse utilisés lors des examens de dépistage et n'apportent aucune information complémentaire. [9]

Malgré cette diversité d'outils sérologiques, un certain nombre de points communs subsistent. En premier lieu, la nature des antigènes à utiliser est réduite. Dès 1984, il a été démontré que tout sujet séropositif développe obligatoirement des anticorps anti-enveloppe du VIH tout particulièrement dirigés contre un épitope séquentiel immuno dominant de la GPTM (épitope par définition également présent au niveau de la polyprotéine gp160). Ainsi des premiers tests développés utilisant du virus complet purifié dissocié, les technologies ont évolué pour intégrer dans les tests de dépistage des antigènes

d'enveloppe recombinants ou synthétiques contenant cet épitope immuno dominant.

2.2.6.3. Stratégie du dépistage.

Recommandation de l'OMS concernant les stratégies de dépistage

Le choix d'une stratégie repose sur :

- L'objectif du dépistage.
- La sensibilité et la spécificité des tests.
- La prévalence du VIH dans la population testée.

TABLEAU N°I : Indications des stratégies alternatives. [8]

Objectifs	Prévalences	Stratégies
Sécurité Transfusionnel		I
Surveillance épidémiologique	> 10 < 10	I II
Diagnostic quand symptômes VIH	> 30 < 30	I II
Diagnostic quand asymptomatique		III

❖ Stratégie I :

Les échantillons sont testés par ELISA ou par une méthode simple /rapide. En cas de réaction positive, le sérum est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH. S'il n'y a pas de réaction, le sérum est considéré comme négatif. Aux fins de la sécurité transfusionnelle, il convient de choisir le test le plus sensible. Si le résultat est positif, le don de sang doit être éliminé selon les mesures de précaution universelles. Pour diagnostiquer et rendre un résultat à un donneur ou à un patient il faudrait le plus souvent utiliser les stratégies II ou III.

- Surveillance des dons du sang

Diagnostic pour patient symptomatique (signes cliniques évocateurs) et prévalence >30%.

= Un seul test de dépistage

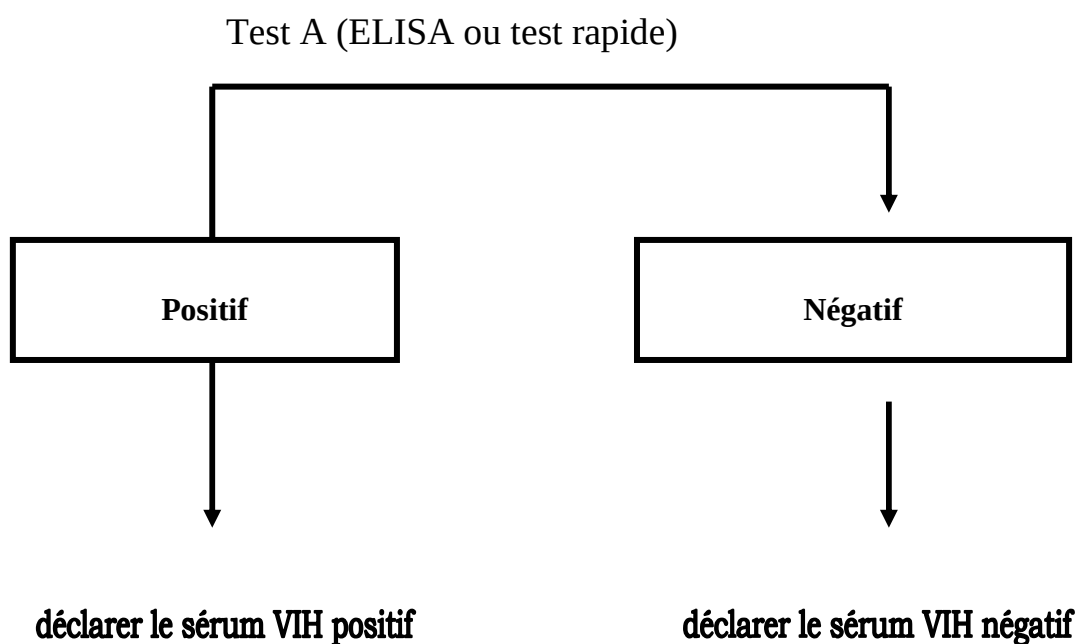


Figure N°4 : Représentation schématique de la stratégie I. [9]

Stratégie II :

Tous les échantillons de sérum/plasma sont d'abord soumis à un ELISA ou à un test simple/rapide. Un sérum qui réagit au premier test (test A) est retesté avec un deuxième test (test B) ELISA ou un test simple/rapide, basé sur une préparation antigénique différente et/ou un principe différent (par exemple, méthode indirecte et méthode par compétition).

- Un sérum qui réagit avec les 2 tests A et B est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH.
- Un sérum qui ne réagit pas à la première épreuve (test A) est considéré comme négatif.

- Tout sérum qui réagit à la première épreuve (test A positif) mais pas à la deuxième (test B négatif) doit être retesté par ces mêmes trousses. Si les résultats concordent après répétition (les 2 tests A et B sont positifs ou les deux tests A et B sont négatifs) le sérum est considéré soit positif, soit négatif. Si les résultats des 2 épreuves A et B demeurent discordants, le sérum est considéré comme indéterminé.
- Surveillance épidémiologique si la prévalence est $< 10\%$
- Diagnostic pour patient symptomatique (signe clinique évocateurs d'infection VIH) et prévalence $< 30\%$
- Diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence

= Application séquentielle de deux tests de dépistage

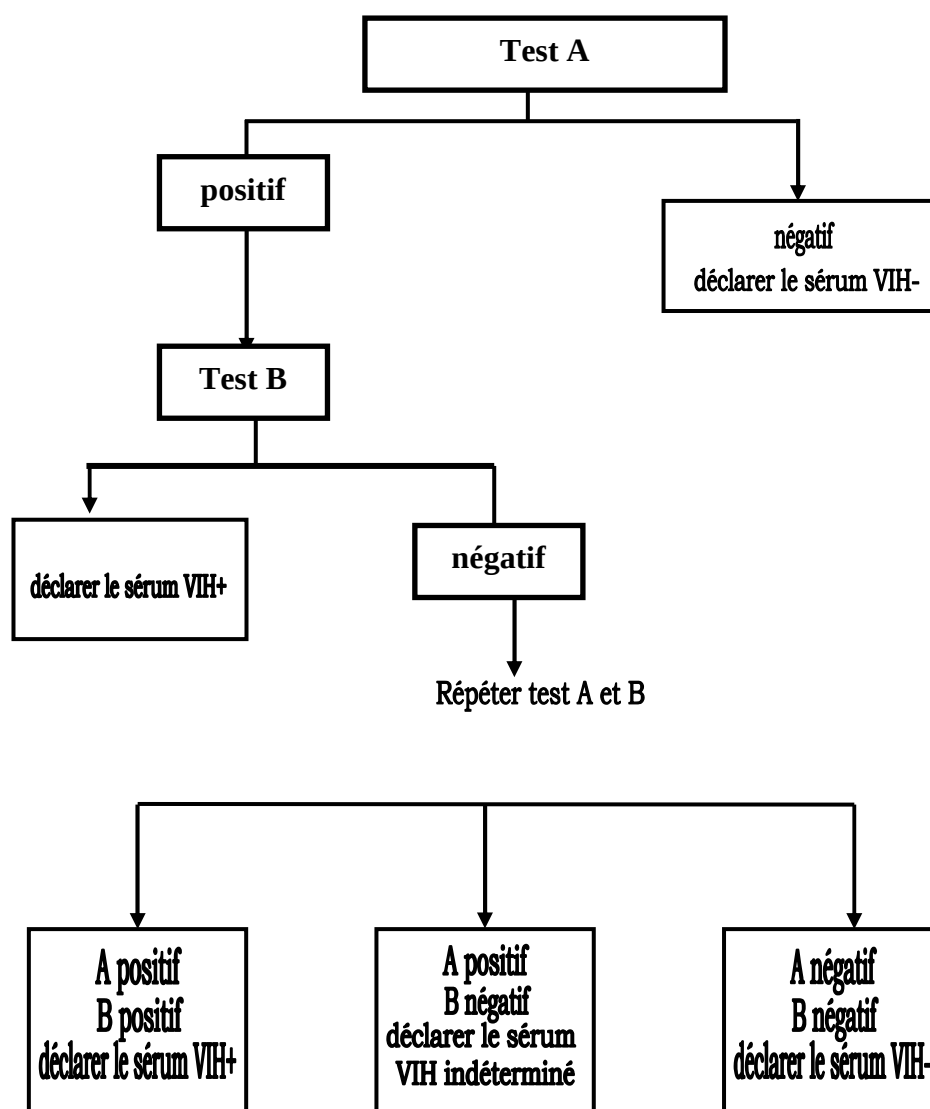


Figure N°5 : Représentation schématique de la stratégie II. [9]

❖ Stratégie III :

Lorsqu'il s'agit de tester des populations où la prévalence du VIH est peu élevée, même en utilisant un test dont la spécificité est élevée, la valeur prédictive positive sera faible. En conséquence, un test supplémentaire s'impose : c'est la stratégie III. Comme avec la stratégie II, tous les sérums sont d'abord testés par ELISA ou un test simple/rapide (test A), et un sérum trouvé

positif au premier test est retesté avec un test différent (test B). Un sérum qui ne réagit pas au premier test est considéré comme négatif pour les anticorps anti-VIH. Un sérum qui réagit au premier test mais ne réagit pas au deuxième doit être retesté au moyen de ces 2 épreuves. Cependant, la stratégie III fait appel à un troisième test (test C) si le sérum réagit au deuxième test ou lors de la répétition de la première épreuve. Les 3 tests employés dans cette stratégie doivent être fondés sur des préparations antigéniques différentes et/ou reposer sur des principes différents. Un sérum dont le résultat demeure discordant à la deuxième épreuve, ou qui réagit au premier et au second test mais ne réagit pas au troisième est considéré comme indéterminé. Un sérum qui réagit au premier test, mais ne réagit ni au deuxième ni au troisième test est considéré comme douteux quand il s'agit de personnes ayant été exposées au risque d'infection par le VIH au cours des 3 derniers mois et négatif quand il s'agit de personnes n'ayant pas été exposées à ce risque.

- diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence >10%

= Application séquentielle de trois tests de dépistage

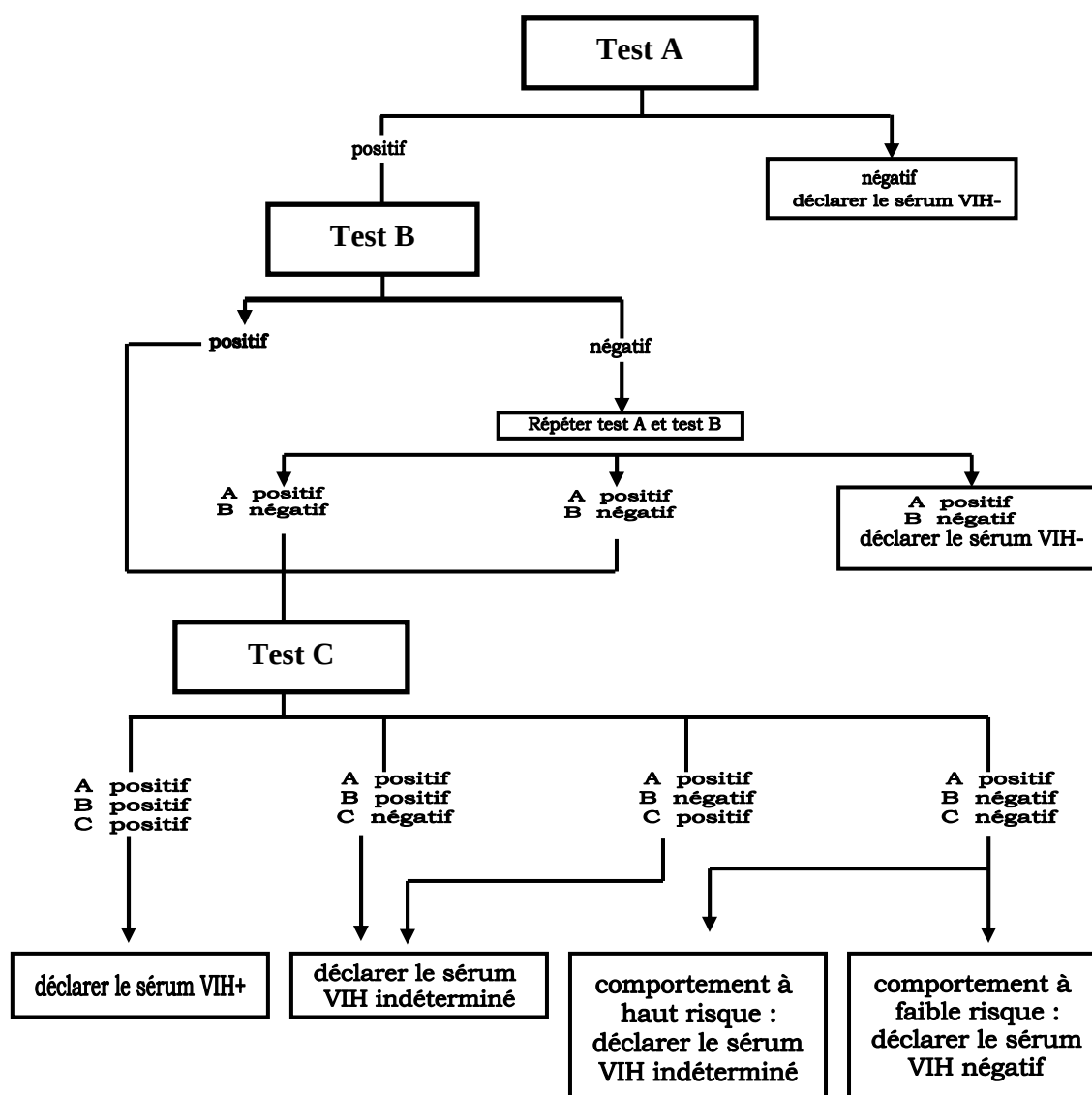


Figure N°6: Représentation schématique de la stratégie III. [9]

Etant donné la précocité d'apparition des anticorps anti-p24, certains fabricants de réactifs ont choisi d'inclure cet antigène de capsid dans leurs tests. Quel que soit le format du test de détection des anticorps anti-VIH, ne sont disponibles pour le dépistage que les réactifs ayant obtenu l'autorisation de mise sur le marché par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSPS) et satisfaisant aux critères stricts de sensibilité et de spécificité exigés

lors des expertises d'enregistrement et de réaction vigilance régulièrement organisées.

Etant donné les implications pour le patient d'une séropositivité HIV, ainsi que l'existence de réactions faussement positives par ELISA, il est absolument obligatoire de pratiquer un test de confirmation avant de délivrer un résultat positif. Le western blot (ou immuno transfert) est actuellement le test de confirmation de choix. Cette technique, qui consiste très schématiquement en un test ELISA sur bandelette, permet de visualiser précisément la présence d'anticorps anti-protéines structurales du VIH. Il est ainsi possible de mettre en évidence les anticorps dirigés contre les produits des trois grands gènes, gag, pol et env. Les protéines gag (ou protéines internes, dites de core) les plus intéressantes pour le western blot sont le précurseur p55 et les protéines matures p24 et p17. Les protéines pol, correspondant aux enzymes virales, sont représentées principalement par les antigènes p66 et p32. Les protéines env (ou protéines d'enveloppe) sont les antigènes les plus importants pour le diagnostic ; ce sont les protéines gp 160 (précurseur), gp 120 (GPSU) et gp41 (GPTM). Les immunoblots peuvent utiliser soit les protéines virales issues du virus purifié et dissocié (lysat viral), soit des antigènes recombinants. Le test étant réalisé dans des conditions satisfaisantes, il reste à interpréter correctement les résultats. Dans la grande majorité des cas, cette interprétation ne pose pas de problème. L'Organisation Mondiale de la Santé recommande la présence au minimum d'anticorps dirigés contre les produits de deux gènes incluant obligatoirement le gène env (anti-env + pol ou anti-env + gag), ou éventuellement la présence d'anticorps dirigés contre seulement deux protéines d'enveloppe, pour affirmer la séropositivité. Cependant, il existe des difficultés qui obligent le biologiste à une grande prudence dès que le résultat observé n'est pas celui d'une franche positivité

3. MÉTHODOLOGIE.

3.1. Cadre d'étude.

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

3.1.1. Historique du CHU Gabriel TOURÉ.

Le CHU Gabriel TOURÉ est situé à Bamako capitale du MALI à cheval entre les communes II et III au centre commercial de la ville. Il est bâti sur une superficie de 3,1hectares.

En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURÉ» en hommage au sacrifice d'un jeune Soudanais stagiaire en 4^{ème} année de médecine de Dakar (SÉNÉGAL). Il était venu faire son stage de vacances au dispensaire central de Bamako. Cela a coïncidé avec une épidémie de peste au Soudan Français. Le jeune étudiant en médecine fut des actions sacerdotales pour sauver les victimes. Il contracta lui-même la peste lors de cette épidémie et mourut en 1934.

3.1.2. Organisation.

L'Hôpital Gabriel TOURÉ a été érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. C'est l'un des onze (11) Etablissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU).

3.1.3. Laboratoire.

L'ancienne pharmacie de l'hôpital a été réaménagée en laboratoire de biologie médicale lui-même faisant partie du Département médico-technique.

Il comprend :

- deux grandes salles de travail pour l'hématologie et la biochimie,
- une salle de prélèvement et de parasitologie,
- une salle de stérilisation,
- une salle de garde avec toilette,

- un bureau de chef de service,
- trois salles aménagées récemment pour les activités de bactériologie et équipées en matériels de bactériologie » (3 automates d'hémoculture BACTEC® 9050, 2 hôtes, des congélateurs des réfrigérateurs, des micro-ordinateurs avec une communication sur Internet.

Les activités sont regroupées par section, chaque section est dirigée par un interne :

- section de biochimie équipée d'un Spectrophotomètre,
- section d'immuno- hématologie équipée d'un Counter ABX micros 60 et d'un CELL-DYN 1700,
- section de parasitologie équipée de Microscopes,
- section de bactériologie pour la recherche,
- section pour les taux de CD4 équipée d'un BD FACS Count™, etc.

Le personnel comprend :

- un pharmacien biologiste,
- Trois internes en pharmacie et un interne en médecine,
- des techniciens de laboratoire repartis entre les différentes sections du laboratoire, un personnel de surface.

Les activités de recherche bactériologique sont supervisées par un professeur de bactériologie virologie. L'équipe technique de bactériologie est appuyée par une technicienne supérieure de l'Institut national de Recherche en Santé Publique (INRSP) et comprend en outre de pharmaciens biologistes, deux techniciens supérieurs et des internes en pharmacie.

3.2. Population d'étude.

Notre échantillonnage a été constitué à partir des prélèvements des patients référés au laboratoire pour un dépistage du VIH, soit parce qu'ils sont malades (hospitalisés ou non) soit parce qu'ils ont décidé volontairement de connaître leur statut sérologique. Les prélèvements ne portent pas les noms et prénom.

3.3. Type d'étude.

Il s'agissait d'une étude transversale, rétrospective (2007 à 2009) et prospective (2010) descriptive pour le diagnostic sérologique de l'infection à VIH chez les personnes malades hospitalisées et les volontaires référées au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

Elle est analytique.

Elle est qualitative et quantitative.

3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.

3.4.1. Critères d'inclusion.

Sont inclus dans notre étude tous les patients reçus au laboratoire pour un dépistage du VIH, en interne (hospitalisés) ou en externe et tous volontaires, du CHU Gabriel TOURÉ.

3.4.2. Critères de non inclusion.

- N'était pas inclus dans notre étude tout prélèvement non conforme.
- Les prélèvements pour la confirmation effectués dans notre laboratoire

3.5. Aspects éthiques.

3.5.1. Confidentialité.

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

3.5.2. Risques liés à l'étude.

Les malades ont été informés des risques qu'ils courent en faisant le dépistage tels que la douleur aux points de piqûre et les possibles infections du site de prélèvement.

3.5.3. Respect des références bibliographiques.

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

3.6. Échantillonnage.

3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage.

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

3.6.2. Taille de l'échantillon.

Durant la période d'étude allant du 1^{er} janvier 2007 au 31 décembre 2009, l'effectif des prélèvements dépistés au laboratoire a été de 15969 prélèvements qui ont constitué notre échantillon.

3.6.3. Variables étudiées.

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés ont été les suivants : Sexe, statut sérologique et type de virus diagnostiqué.

3.6.4. Collecte des données.

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

3.6.5. Saisie et analyse des données.

Les données ont été saisies, traitées et analysées sur Microsoft Office Excel 2007 pour Windows.

Word 2007 a été utilisé pour le traitement de texte.

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

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

<50% c'est insuffisant,

De 50 à 69% c'est passable,

De 70 à 79% c'est assez bon,

De 80 à 100% c'est bon.

3.7. Conditions de sécurité au laboratoire.

- port de gant et blouse,
- lavage des mains après élimination des gants,
- eau de javel pour effluents (sérum – lavage),
- pas de contact des substrats avec la peau,
- nettoyage des paillasse à l'eau de javel puis à alcool à 70°,
- utilisation de 2 sortes de poubelles :
 - une pour cartons d'emballage, papiers...
 - une pour déchets contaminés pour incinération,
- élimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux),
- lavage des mains avant de quitter le labo,
- toute plaie doit être protégée (pansement),
- blessures avec sang :
 - nettoyage à l'eau de javel et au savon,
 - rinçage,
 - désinfection avec l'alcool à 70° pendant 3 minutes ou eau de Javel diluée au 1/10,
- projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique),
- déclaration des accidents de travail sur le registre et suivi sérologique (faire une sérologie dès l'accident puis contrôler à 3 semaines et à 3 mois),
- la mise à la disposition de médicaments anti- rétroviraux pour le personnel de l'hôpital en cas de risque important doit être réfléchi en fonction des disponibilités.

3.8. Optimisation des conditions opératoires.

- Avant l'utilisation du kit :
 - laisser équilibrer les réactifs d'un kit pendant 30 minutes à la température ambiante (se conformer aux recommandations du fabricant),
 - vérifier que le kit n'a pas atteint la date de péremption,

- ne jamais mélanger les réactifs de lots différents.
- Pendant l'utilisation du kit :
 - respecter les dilutions et temps d'incubation,
 - vérifier le volume de « dispense » et l'utilisation correcte des micropipettes. (Vérifier le calibrage de ces pipettes),
 - s'assurer que la verrerie a bien été rincée à l'eau distillée avant utilisation puis séchée.

3.9. Méthodes de laboratoire.

Procédure de tests de diagnostic biologique rapides (TDR) du VIH

Phase pré analytique :

- Identification du patient
- Vérification de la demande d'examen
- Counseling pré test
- Enregistrement du patient (nom et prénoms, âge, sexe, résidence, profession, ethnie, autres renseignements si besoin)
- Choix des matériels de prélèvement
- Identification des matériels de prélèvement
- Prélèvement proprement dit
- Traitement (centrifugation...), Transport et conservation des échantillons

Phase analytique :

- Choix des tests, contrôles de qualités
- Exploitation des modes opératoires

Phase post analytique :

- vérification des résultats des contrôles et du patient
- Validation technique /analytique des résultats par le technicien
- Validation biologique des résultats par le biologiste
- Exploitation des résultats, enregistrement

- Conservation des prélèvements
- Counseling post test
- Rendu des résultats aux prescripteurs/clients
- Archivage des résultats
- Gestion des déchets biomédicaux

3.9.1. Le prélèvement sanguin.

Principes- Indications

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

Prélèvements

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

Matériel et Réactifs

- Corps et aiguille de système de prélèvement sous vide.
- tubes de prélèvement sous vide.
- Seringues à usage unique avec aiguille : 5, 10 et 20 ml.
- Tubes pour prélèvement traditionnel : conditionnements standards (5 ou 7ml) et pédiatriques (2ml).
- Garrot.
- Coton hydrophile.
- Alcool à 70° ou Alcool iodé, Polyvidone Iodée (Bétadine[®] solution)...
- Pansements.
- Boîte récupératrice d'aiguilles, poubelle pour déchets contaminés et poubelle pour déchets non contaminés.

NB : avant d'appeler le patient, il est nécessaire de vérifier la présence de tout le matériel indispensable au prélèvement.

Mode opératoire

Déroulement du prélèvement sanguin.

Le préleveur, muni du bulletin de demande d'analyse s'assure de l'identité du patient (nom, prénom et date de naissance).

Il s'assure de la conformité des conditions de prélèvement :

- État de jeun.
- Dernière prise de médicaments.
- Autres conditions si nécessaires.

Il s'enquiert de l'existence d'une éventuelle thérapeutique et sollicite, si nécessaire, des informations cliniques complémentaires et note ces informations sur le bulletin de demande d'analyse.

Il sélectionne les tubes à prélèvements (nature, contenance et nombre) en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).

Il identifie les tubes en inscrivant le nom, le prénom, le numéro d'identification et la date.

- Antisepsie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique.
- Pose du garrot et recherche de la veine, à prélever rapidement.
- Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire. Utiliser les tubes à prélèvement en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).
- Desserrer le garrot avant de retirer l'aiguille.
- Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton sec.
- Le patient assure la compression (et non pas la friction) pendant 2 à 3 minutes.

NB : En cas de prélèvement sur différents types de tubes, l'ordre de prélèvement suivant doit être respecté (le code couleur correspond aux anti-coagulants décrits dans le document Instructions

« Choix des tubes »

ROUGE → BLEU → VERT → VIOLET et/ou NOIR → GRIS

Élimination de l'aiguille :

Les aiguilles doivent être obligatoirement éliminées dans le récipient prévu à cet effet (boîte de sécurité), immédiatement après le prélèvement et au vu du patient. Le recapuchonnage est interdit.

Stratégie nationale de dépistage

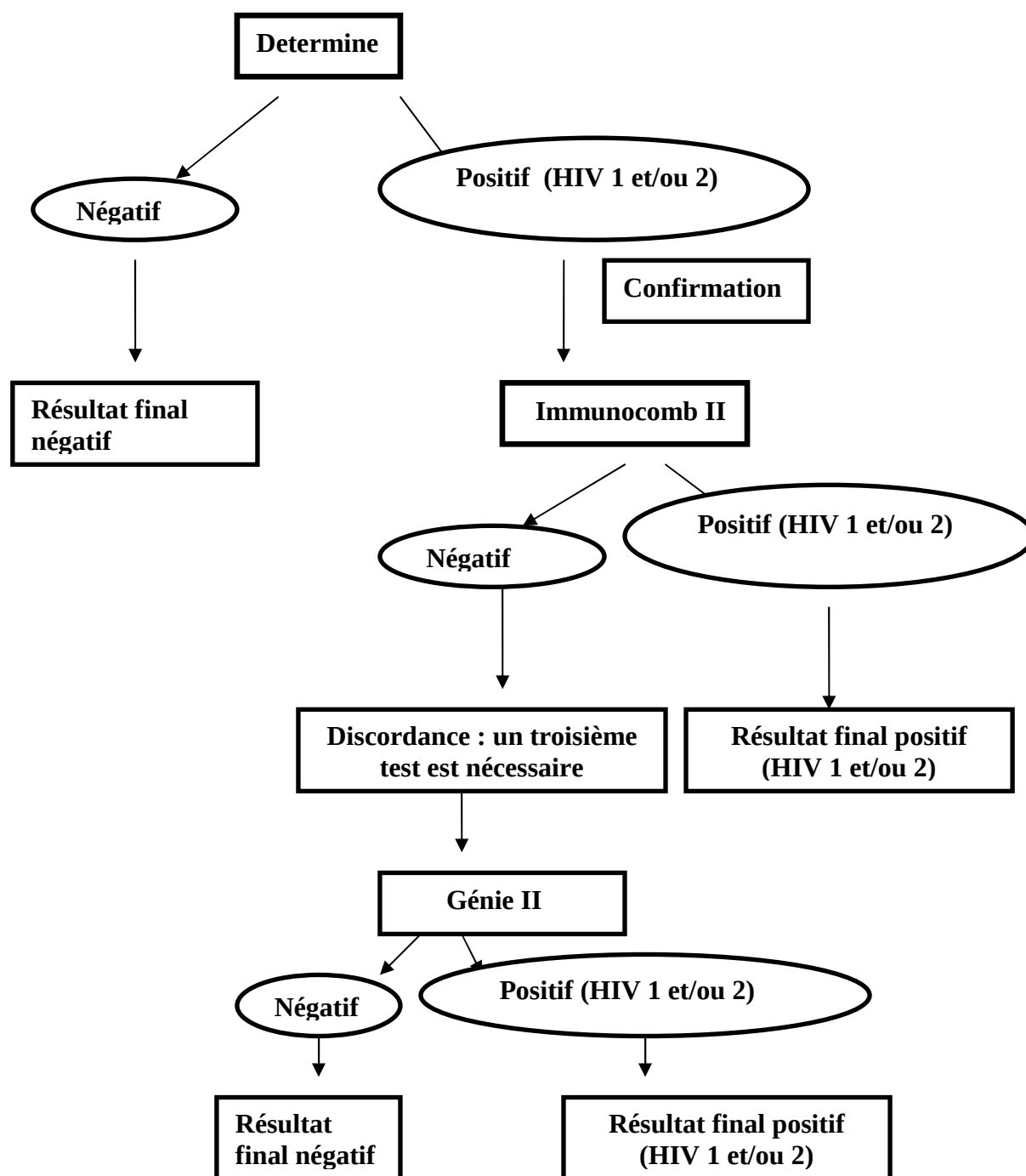


Figure N°7 : Algorithme utilisé durant notre étude.

Source : référence Mode opératoire du diagnostic sérologique du VIH au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ

3.9.2. Sérodiagnostic de HIV par le réactif Détermine™ HIV-1/2

Dénomination et domaine d'application Abbott Détermine™ HIV-1/2 est un test immunologique qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Ce test constitue une aide pour la détection des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 chez les sujets infectés.

Principe du test

Détermine HIV-1/2 est un test Immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2. L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon et l'échantillon migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué, il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium antigène. Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre patient. Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre/patient en formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre patient. Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont absents, le conjugué antigène colloïde de sélénium traverse la fenêtre/patient sans former de ligne rouge. Une barre de contrôle de la procédure est inclus dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

3.9.3. Sérodiagnostic du VIH par réactif l'Immunocomb II® Principe du test HIV-1 & 2 Bi Spot

La trousse immunocomb II HIV-1 & 2 Bi Spot® est un test Immuno enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points Spots de réaction :

Spot supérieur – anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines (Contrôle interne).

Spot médian - peptides synthétiques VIH-2

Spot inférieur - peptides synthétiques VIH-1.

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré-distribués dans le bac de développement. Le bac de développement est divisé en 6 compartiments (A à F) de 12 puits chacun, chaque compartiment correspond à un réactif et à une étape du test. Le déroulement du test consiste à transférer le peigne d'un compartiment à l'autre. Le test débute par la distribution des échantillons de sérum ou de plasma dans les puits du compartiment A du bac de développement. Le peigne est alors introduit dans le compartiment A. Les anticorps anti-VIH éventuellement dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne. Parallèlement, les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturées au niveau du spot supérieur par les anticorps anti-Ig humain (Contrôle interne). Tout anticorps non fixé de façon spécifique lors de cette première étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le compartiment B. Dans les compartiments C et D, les immunoglobulines humaines de classe fixées sur les dents du peigne sont reconnues par des anticorps de chèvres anti-humaines conjugués à la phosphatase alcaline. Après une nouvelle étape de lavage dans le compartiment E, la phosphatase alcaline réagit dans le compartiment F avec un composé chromo-génique. Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spots gris-bleu à la surface des dents du peigne.

Bacs de développement :

La trousse comprend trois bacs de développement recouverts par un film d'aluminium. Chaque bac de développement contient tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test. Un bac de développement est constitué de 6 compartiments (A à F) de 12 puits chacun.

Chaque compartiment contient les réactifs suivants :

Compartiment A : diluant d'échantillons

Compartiment B : solution de lavage

- Compartment C :** anticorps de chèvre anti-humaine conjugué
à la phosphatase alcaline
- Compartment D :** anticorps de chèvre anti-humaines conjugué à
la phosphatase alcaline
- Compartment E :** solution de lavage
- Compartment F :** substrat chromo-génique contenant du
5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) et
nitro- bleu- tétrazolium (NBT)



Figure N°8 : Bac de développement et peignes.

Source : Photographies. Dr Samba Adama SANGARE laboratoire CVD CHU Gabriel Touré.

Sécurité et précautions d'emploi :

Cette trousse est réservée au diagnostic in vitro seulement.

- Bien qu'inactivé, le contrôle positif doit être considéré comme potentiellement infectieux.
- Tous les autres produits d'origine humaine entrant dans la composition des contrôles ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) et pour les sérologies de l'hépatite C et du VIH. Néanmoins, aucune méthode de dépistage ne pouvant garantir l'absence totale de contamination virale, tout contrôle ou échantillon humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et être manipulé comme tel.
- Se protéger avec des gants et une blouse de laboratoire. Suivre les consignes de sécurité de travail au laboratoire pour la manipulation de sérum ou de plasma humains.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Tout échantillon testé, peigne utilisé, bacs de développement ou tout autre matériel utilisé lors de l'utilisation de la trousse, doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.
- Ne pas utiliser la trousse au delà de sa date de péremption.

Conservation de la trousse :

Conserver la trousse dans sa boîte originale entre 2° et 8 °C. Dans ces conditions, la trousse demeure stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas congeler la trousse.

3.9.4. Sérodiagnostic du VIH par le réactif Génie II HIV-1/2[®]

Principe du test

Le test Génie II HIV-1/2[®] est un test immuno enzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-HIV-1 et anti-HIV-2 par des antigènes. Le test utilise l'immuno-chromatographie et l'immuno-concentration en combinaison. Le support de réaction est constitué de

deux puits : le puits A, de forme circulaire, pour le dépôt de l'échantillon, et le puits B, plus grand et elliptique, qui est le puits de réaction. La membrane du puits B est sensibilisée en deux Spots de réaction séparés par les antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2 et en un troisième Spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test. Le test débute par le dépôt dans le Puits Echantillon A de l'échantillon dilué. Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH biotinylés et migrent le long de la membrane chromatographique. Au niveau du Puits de Réaction B, les complexes antigènes anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance ; le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline. L'addition d'un substrat chromogénique permet la visualisation des résultats sous la forme d'un spot gris-bleu. Enfin l'addition d'une solution d'arrêt termine la réaction. L'apparition de 2 ou 3 spots gris-bleu dans le puits de réaction B indique la présence d'anticorps anti-VIH. Dans le cas d'un résultat négatif, seul le spot de contrôle interne sera visible.

Sécurité et précautions d'emploi :

Cette trousse est réservée au diagnostic in vitro seulement. Manipuler les contrôles positifs et négatifs, bien qu'ayant été inactivés, comme potentiellement infectieux. Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage. Se protéger avec des gants à usage unique et une blouse de laboratoire. Suivre les consignes de sécurité de travail en laboratoire pour la manipulation des sérums ou plasmas humains. Ne pas pipeter à la bouche. Tout échantillon testé, microtube, pipette jetable, tout support de réaction ou tout autre matériel utilisé lors de l'utilisation de la trousse doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique. Ne pas mélanger les

réactifs provenant de lots différents. Ne pas toucher l'embout des compte-gouttes. Ne pas utiliser la trousse au delà de la date de péremption.

Conservation de la trousse :

Conserver la trousse entre 2° et 8° C Mais ne pas congeler.

4. RESULTATS.

4.1. Résultat d'évaluation du laboratoire

TABLEAU N°II : Évaluation des conditions du bâtiment, fluides et généralités

Bâtiments, fluides et généralités.....	93%
Conditions du bâtiment.....	100%
Approvisionnement en fluides.....	100%
% de pièces techniques utilisées.....	100%
Nombre de pièces techniques (niveau dépendant).....	100%
Possibilité de communication.....	100%
Couverture des maladies infectieuses.....	56%

Les conditions générales du bâtiment sont à 100 % avec une couverture des maladies infectieuses à 56%

TABLEAU N°III : Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire

Biosécurité et hygiène.....	90%
Utilisation de moyens de protections.....	60%
Procédures en biosécurité.....	100%
Formations en biosécurité.....	100%
Conditions de biosécurité.....	100%
Sécurité des équipements.....	67%
Elimination des déchets.....	100%
Documentation en biosécurité.....	100%

La biosécurité et l'hygiène sont assurées à 90% pour le laboratoire. Parmi les paramètres étudiés, les mesures de protection du personnel et la sécurité avec l'équipement sont assurées respectivement à 60% et 67%. En dehors de ceux-ci, les autres paramètres de biosécurité sont assurés à un taux satisfaisant (100%).

TABLEAU IV : Évaluation des prélèvements et de l'hygiène

Prélèvements et hygiène.....	95%
Qualité des prélèvements reçus.....	90%
Procédures de prélèvement.....	100%
Qualité du formulaire de demande d'examen.....	90%
Esprit critique vis-à-vis des prélèvements.....	100%
Qualité des registres.....	78%
Examen macroscopique.....	100%
Devenir des spécimens.....	100%
Qualité de la traçabilité des spécimens.....	100%

Dans l'ensemble l'évaluation des prélèvements et l'hygiène sont à 95% avec l'esprit critique vis-à-vis des prélèvements appréciés à 100% avec une qualité de la traçabilité des spécimens à 100%

TABLEAU N°V : Quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie (GBEA MALI)

Désignation	Quantité disponible
Bain marie	1
Balance de précision	0
Centrifugeuse	2
Congélateur -20°C	1
Congélateur-70°C	2
Connexion internet/an	1
Chronomètre	3
Etuve	2
Four	0
Générateur de secours	1
Equipement ELISA	1
Incubateur de grosse taille	1
Incubateur de petite taille	0
Machine à laver	1
Microscope binoculaire	2
Ordinateur+imprimante	3
Spectrophotomètre	2
Réfrigérateur 6°C	4
Moyenne	73%

La quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie est de 73%.

TABLEAU N°VI : Évaluation des réactifs et approvisionnement

Réactifs et approvisionnement.....	91%
Préparation de réactifs faits maison.....	0%
Qualité de la gestion des réactifs.....	80%
Disponibilité de fonds pour les réactifs.....	40%
Utilisation de réactifs périmés.....	100%
Disponibilité du premier test	96%
Disponibilité du deuxième test.....	96%
Disponibilité du troisième test	96%
Disponibilité de réactifs de typages.....	100%
Disponibilité de réactifs de 4 ^{ème} génération.....	100%
Disponibilité de réactifs pour autres sérologies	90%

L'évaluation des réactifs et l'approvisionnement du laboratoire sont assurés à hauteur de 91% dans l'ensemble. La disponibilité de fonds pour l'achat des réactifs sont assurés à 40%.

TABLERAU N°VII : Évaluation de la qualité totale

Qualité totale.....	85%
Disponibilité de procédures d'analyse.....	100%
Présence de contrôle de qualité interne.....	100%
Participation à un contrôle de qualité externe.....	100%
Présence de relevés de températures.....	100%
Qualité de la maintenance préventive.....	60%
Réparation et réglage des instruments.....	33%
Disponibilité de documentation et de pièces détachées	100%

L'évaluation de la qualité totale est de 85% avec une disponibilité de procédures d'analyse, la présence de contrôle de qualité interne et la participation à un contrôle de qualité externe à 100%. Parmi les paramètres étudiés la réparation et réglage des instruments et la qualité de la maintenance préventive sont respectivement de 33% et 60%.

TABLEAU N°VIII : Évaluation des rapports d'activité, analyse et communication du VIH

Rapports, analyse et communication VIH.....	96%
Présence de rapports sur le VIH.....	100%
Présence de rapports d'activité	100%
Présence de rapports d'activité électroniques.....	100%
Possibilité de référer les échantillons.....	100%
Existence de supervision du laboratoire.....	100%
Qualité de la collaboration laboratoire / laboratoires.....	75%

L'évaluation des rapports, analyse et communication sont assurés à 96%. Une mission de Cellule Sectorielle de Lutte contre le SIDA du ministère de la santé a effectué une supervision du laboratoire durant la période d'étude. La qualité de la collaboration laboratoire/laboratoire est assurée à 75%.

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

PARAMETRES	TAUX	APPRÉCIATIONS
Bâtiment, fluides et généralités	93%	Bon
Biosécurité et hygiène	90%	Bon
Prélèvement et hygiène	95%	Bon
Équipements	73%	Assez bon
Réactifs et approvisionnement	91%	Bon
Qualité totale	85%	Bon
Rapports analyses et communications	96%	Bon
MOYENNE GÉNÉRALE	89%	Bon

Ce tableau nous donne une idée générale sur l'assurance qualité au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ en fonction des paramètres évalués dont la moyenne est de 89% dans le diagnostic du VIH.

Source : logi-Evaluat-labo.xls

4.2. Nombre de dépistages effectués au laboratoire.

Notre étude a porté sur les résultats de 15969 échantillons de sérums analysés et repartis comme suit : 4476 échantillons de sérums étaient positifs et 11493 échantillons de sérums négatifs

Tous les échantillons positifs ont subi une analyse de sérotypage.

Le laboratoire dans un souci permanent d'améliorer la qualité des prestations, au moment du rendu des résultats des patients dont les sérums sont positifs au VIH, effectue un prélèvement de confirmation.

Les résultats de la sérologie du VIH effectuée dans le cadre de notre étude sont consignés dans les tableaux et figures suivants :

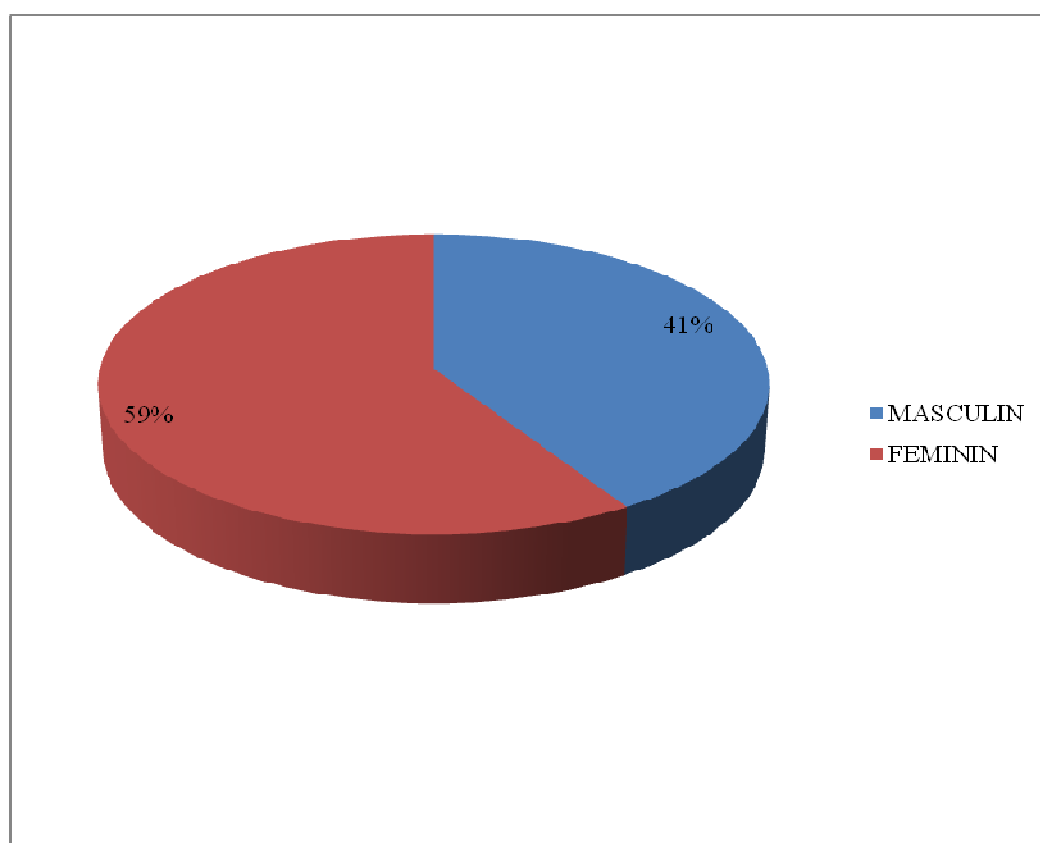


Figure N°10 : Répartition des patients selon le sexe. Le sexe ratio est de 0.69.

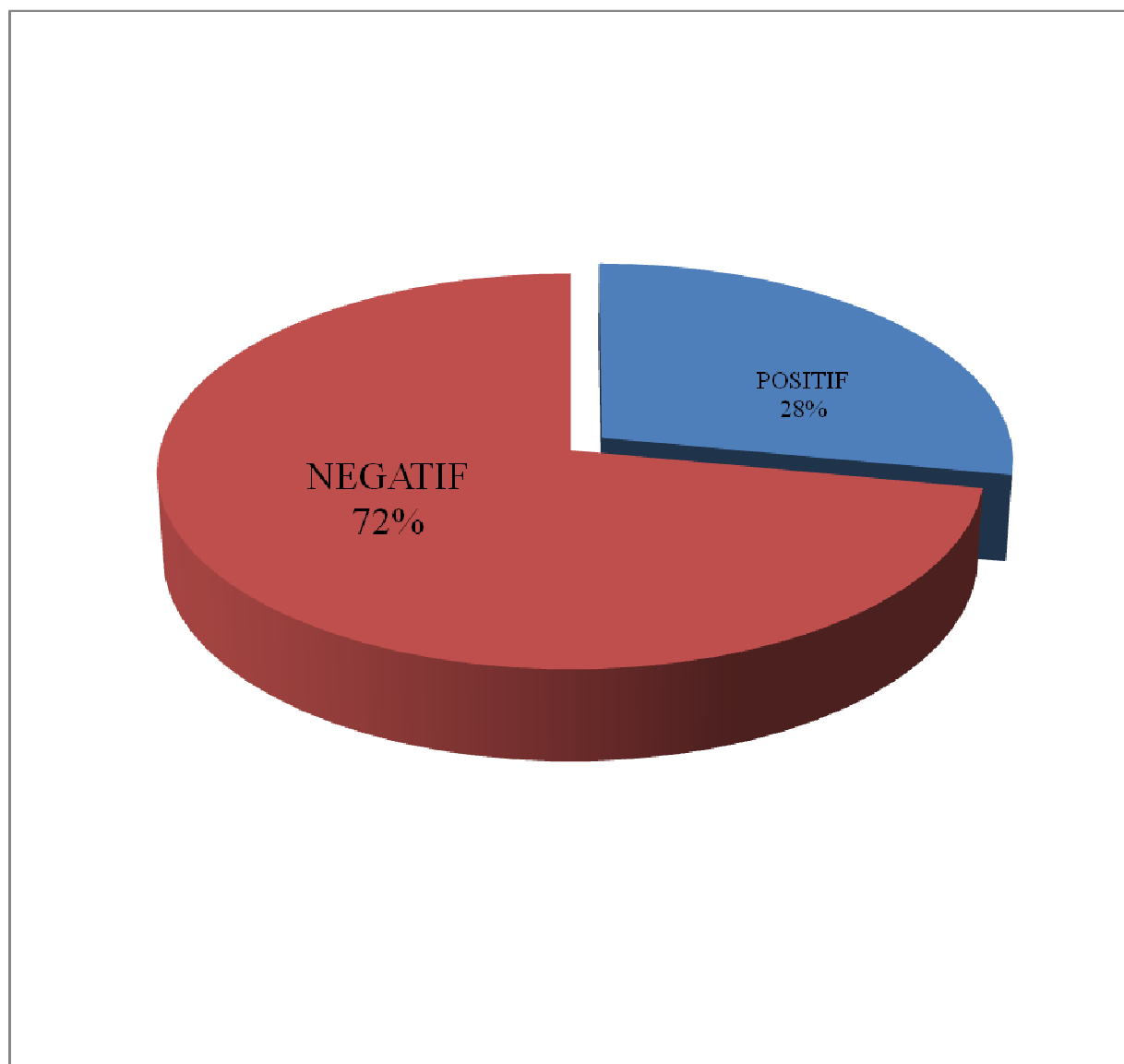


Figure N°11 : Répartition des patients selon le statut sérologique.

Parmi les patients dépistés, il y a 4476 cas positifs soit 28,13% et 0 cas de discordance.

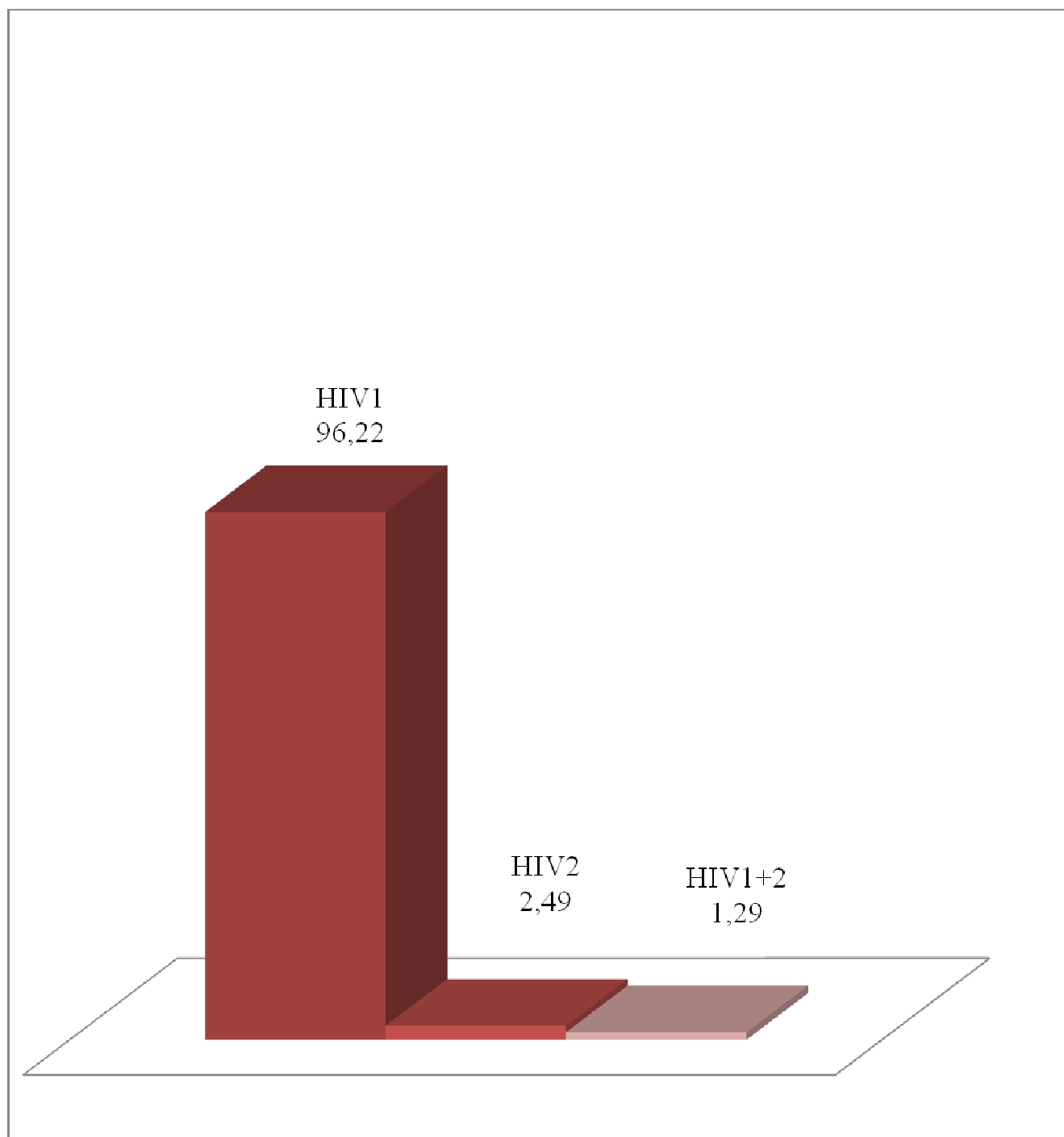


Figure N°12 : Répartition des patients selon les Sérotypes des VIH.

Le sérotype VIH-1 prédomine avec 96,22% (soit 4307 cas), le sérotype VIH-2 est à 2,49% (soit 111 cas) et le sérotype VIH-1+2 avec 1,29%(soit 58 cas).

TABLEAU N°X : Répartition des sérotypes des VIH selon les années 2007, 2008 et 2009.

Années Sérotypes	2007	2008	2009
	%	%	%
VIH1	<u>96,58</u>	<u>94,87</u>	<u>97,21</u>
VIH2	2,18	3,26	2,04
VIH1+2	1,24	1,87	0,75
Total	100	100	100

Les répartitions des Sérotypes des VIH sont semblables selon les années considérées

TABLEAU N°XII : Répartition des patients selon le statut sérologique par rapport au sexe.

Sexes	Statuts	
	Négatif	Positif
	%	%
Masculin	46,24	41,26
Féminin	53,76	58,74
Total	100	100

Le taux le plus élevé de positivité au VIH s'observe chez les femmes soit 58,74%.

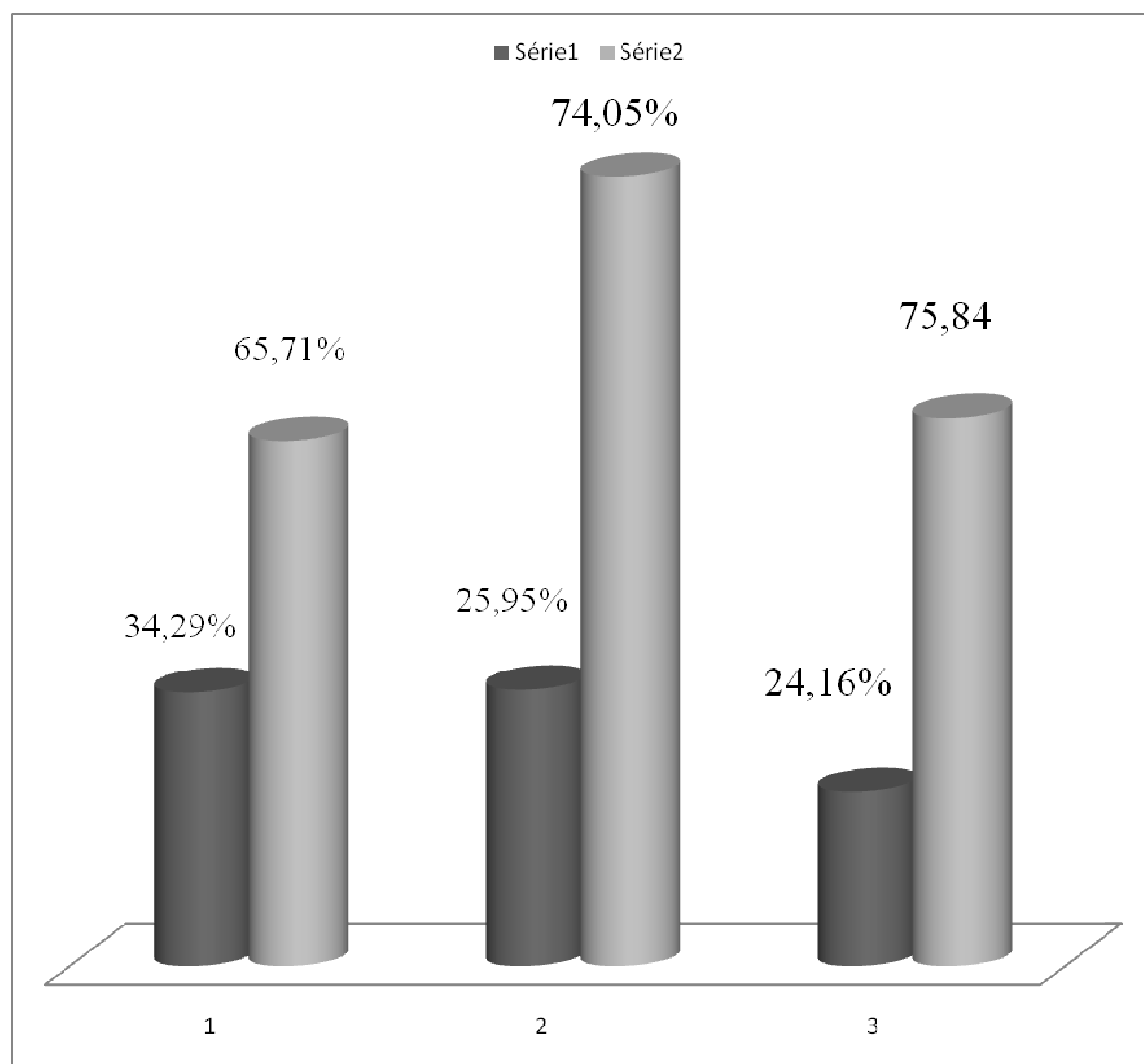


Figure N°13 : Répartition des patients selon les statuts aux cours des années 2007, 2008 et 2009.

La séroprévalence diminue légèrement entre 2007 et 2009.

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.

La présente étude qui a porté sur la contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic du VIH au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ a concerné 15969 prélèvements reçus de janvier 2007 à décembre 2009. L'objectif de cette étude descriptive a été atteint, car la séroprévalence et sa caractérisation par type de VIH, le profil socio démographique des patients infectés ont été déterminés et les problèmes affectant les activités de dépistage du VIH ont été identifiés au cours de la période indiquée, ceci à travers le respect rigoureux de la méthodologie adoptée. Cette étude sur l'assurance qualité dans le diagnostic sérologique de l'infection à VIH a été faite sur la base d'un traitement manuel, de saisies sur Word, de données enregistrées dans le logiciel Excel et les variables comme le sexe et l'année ont été croisés avec le statut sérologique des patients dépistés et les sérotypes de VIH.

Les résultats de cette étude qui a porté sur 15969 prélèvements reçus durant la période indiquée permettent d'avoir une image relativement claire du dépistage au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ. Notre étude ne saura être extrapolée à la population générale de Bamako pour un certain nombre de raisons qui sont :

1. La taille de l'échantillon n'est pas représentative de l'ensemble du District de Bamako ;
2. Le laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ n'est pas le seul centre de dépistage du District de Bamako ;
3. Le Laboratoire reçoit des malades hospitalisés, des malades venant des autres structures de santé de la ville et des volontaires.

L'étude sur La contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic sérologique de l'infection à VIH est une action continue basée non seulement sur le dépistage volontaire mais aussi sur le dépistage dans le cadre du bilan de santé lors des consultations médicales. **[10, 11]**

Ceci est d'autant plus important que la qualité de vie et le nombre d'années de vie gagnées pour la personne contaminée est meilleur. Sur le plan de la santé

publique, la connaissance du statut sérologique a un impact positif sur les comportements à risques et réduit les frais médicaux grâce à une prise en charge plus précoce. [12]

Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de la situation du VIH dans les formations sanitaires. Sur un échantillon total de 15969 personnes dépistées, il a été enregistré 4476 cas de positivité aux tests VIH, soit une séroprévalence 28,13 %.

5.1. Du point de vue de la méthode.

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

- Assurance de la Qualité (**AQ**) : l'ensemble des mesures prises dans le laboratoire qui garantissent que les résultats finaux rendus par le laboratoire sont aussi exacts que possible. Ceci a nécessité un contrôle des prélèvements, une mise en place des MON (Modes Opératoires Normalisés) une révision des procédés de transcription, l'utilisation des tests choisis comme étant les plus fiables et la vérification des comptes rendus des résultats du jour au jour;
- Contrôle de Qualité (**CQ**) : Comprenait les mesures qui étaient prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier qu'elle se déroule correctement. Ceci comprenait la vérification des conditions de température correctes, de l'existence de témoin de contrôle, etc. Ce CQ indiquait si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables. Le contrôle de qualité n'indique pas cependant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés ;
- Évaluation de la Qualité (**EQ**) : Est le moyen de déterminer la qualité des résultats.

Ceci a consisté à envoyer des échantillons dans d'autre laboratoire pour une évaluation externe de la performance du laboratoire, L'évaluation de la qualité est mise en œuvre en vu de déterminer l'efficacité du programme d'assurance de la qualité.

Les valeurs prédictives d'un test rendent compte mieux de sa validité dans une population donnée. Le Bureau régional pour l'Afrique, dans le souci permanent d'améliorer le système de diagnostic du VIH a tenu à discuter de ce problème lors de son atelier, de mettre à jour leurs connaissances afin de pouvoir une fois rentrée, développer un programme national d'assurance de qualité. [13]

5.1.1. Choix des tests de dépistages rapides (TDR)

Le test de dépistage rapide (TDR) du VIH est un test simple d'utilisation qui permet de connaître le statut sérologique d'une personne trois mois après la dernière prise de risque. Ce test est conçu pour donner un résultat dans un délai court (environ 30 minutes) après l'analyse de quelques gouttes de sang, salive, sérum ou plasma, selon le type de test utilisé. S'il est positif, un test de confirmation doit être effectué. Ceci a été rapporté par BARRE S pour la mise en évidence des anticorps anti- VIH dans le sérum humain (ou dans les **urines**). [14]

Le choix du ou des tests à utiliser, c'est à dire de la stratégie de dépistage la plus appropriée, repose sur trois critères :

- 1- l'objectif du test
- 2- la sensibilité et la spécificité du ou des tests utilisés
- 3- la prévalence de l'infection à VIH dans la population testée.

La sensibilité et la spécificité sont deux éléments de première importance qui permettent de déterminer l'exactitude avec laquelle un test peut faire la distinction entre personne infectées et personnes non infectées.

Un test dont la sensibilité est élevée donne peu de résultats faussement négatifs. Aussi, seuls les tests ayant la sensibilité la plus élevée possible seront utilisés lorsqu'il est nécessaire de réduire au minimum le taux de résultats faussement négatifs.

Notre algorithme de dépistage utilise trois tests de dépistage (ELISA en tests rapides de diagnostic ou TDR) utilisant des préparations antigéniques reposant sur des principes différents.

L'OMS ne recommande cette stratégie que pour le diagnostique individuel de l'infection à VIH en zone de faible endémicité (prévalence inférieur ou égale à 10%). [15]

5.1.2. Avantages du test rapide

Ce test rapide nécessite une quinzaine de minutes de manipulation. Il se fait de façon unitaire. Cette simplicité d'emploi permet d'utiliser ce test dans de nombreux pays en développement. Ces trousse ont déjà été testées avec succès dans des programmes de dépistage et de prévention dans les pays africains (Algérie, Cameroun, Sénégal...) [16 ; 17]

Il est très utile dans les accidents d'exposition au sang : si le sérum du patient source est positif, un traitement anti-rétroviral est mis en route très rapidement chez le patient exposé. Les performances de ces tests sont excellentes (Sensibilité entre 95,2 et 99,3%, Spécificité > 99%). Des trousse permettant la réalisation de ces tests à partir de la salive ou des urines ont été commercialisées. L'utilisation de ces prélèvements représente une option attrayante car ces méthodes de prélèvements sont non invasives et peuvent être effectuées pratiquement n'importe où (notamment au domicile d'un patient). [18]

5.1.3. Limites des tests utilisés

5.1.3.1. Limites de la méthode de dépistage par Abbot Determine™ HIV1/2:

Le test Abbot Determine™ HIV1/2 est destiné à détecter les anticorps anti VIH-1 et VIH-2 dans le sérum, le plasma et le sang total humains. D'autres liquides biologiques risquent de fournir des résultats imprécis. L'intensité de la barre « patient » n'est pas nécessairement corrélée avec le titre de l'anticorps se trouvant dans l'échantillon. Un résultat négatif par Determine VIH ½ n'exclut pas la possibilité d'une infection par le VIH. Un résultat faussement négatif peut être obtenu dans les circonstances suivantes :

- Faibles taux d'anticorps (début de séroconversion) en dessous de la limite de détection du test ;

- Infection par un variant du virus moins facilement détectable par la configuration des tests Détermine VIH1/2 ;
- Patient présentant des anticorps anti- VIH qui ne réagissent pas avec les antigènes spécifiques utilisés dans la configuration du test ;
- Condition de traitement de l'échantillon provoquant une perte de polyvalence de l'anticorps anti- VIH ;

Pour ces différentes raisons, il faut prendre des précautions lors de l'interprétation des résultats négatifs. D'autres données cliniques (par exemple symptômes ou facteurs de risque) devront être utilisées en association avec le test ;

Des résultats positifs devront être ré analysées en utilisant une autre méthode et les résultats devront être évalués à la lumière clinique globale avant d'établir un diagnostic ;

Des échantillons de sang total ou de plasma contenant des anticoagulants autre que l'EDTA peuvent donner des résultats incorrects.

5.1.3.2. Limites des trousse de dépistage par Génie II[®] HIV-1/HIV-2 et Immunocomb II[®] :

Les trousse Génie II HIV-1/HIV-2 et Immunocomb II[®] sont des tests de dépistage spécifiques. La production d'anticorps anti-VIH pouvant être retardée à la suite de l'exposition initiale au virus, les tests de dépistage peuvent ne pas détecter les anticorps dans la phase précoce de l'infection. Aussi, un résultat négatif ne permet pas d'exclure la possibilité d'une infection.

La présence d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2 doit être confirmée par un test de confirmation.

Conformément à la législation française, ce test doit être utilisé en association avec un test ELISA pour le dépistage des anticorps anti-VIH.

5.1.4. Comparaison entre les tests

Les tests ELISA sont plus intéressants dans le dépistage à grande échelle d'échantillons mais sont plus long en durée d'exécution (2 heures), difficile à

réaliser et en plus, nécessitent d'être réalisés dans des laboratoires bien équipés, sophistiqués ayant une alimentation électrique constante. Par contre les tests rapides utilisés dans les dépistages ne nécessitent pas d'appareils sophistiqués, d'eau distillée, et s'exécute en peu de temps (10 à 30 minutes). Il ne demande pas une haute précision. Ainsi DetermineTM, Génie II[®] HIV1/2 et Immunocomb II[®] HIV1/2 peut être utilisé pour un dépistage rapide dans les régions peu développées ne disposant pas de laboratoires équipés. TRAORE S a également montré les avantages des tests rapides par rapport à l'ELISA. [19]

5.2. Du point de vue des résultats.

5.2.1. Résultat de la sérologie VIH par rapport au sexe.

Dans notre étude, plus de la moitié 58,82% (n = 9393 cas) étaient de sexe féminin contre 41,18% (n =6576 cas) de sexe masculin de même que le nombre de femmes séropositives 58,74% est supérieur à celui des hommes 41,26%. Cette prédominance féminine a été rapportée par certains auteurs dans beaucoup de pays à travers le monde : en Afrique, en Asie du Sud et du Sud-est, en Amérique latine et les Caraïbes où près de 50 % des adultes porteurs sont des femmes. [20] L'EDSM III estimait déjà que les femmes étaient les plus touchées dans la population soit 2% des séropositifs contre 1,7% pour les hommes. [21] Cependant d'autres auteurs ont trouvé une prédominance de séropositivité masculine. L'observation de cette évolution de 2001 à 2004 par ces mêmes auteurs montre une diminution du nombre de sexe masculin avec une stabilité chez les femmes. [22]

Toutes ces études corroborent avec la tendance globale mondiale de « féminisation » de l'infection par le VIH. Cette incidence élevée du SIDA sur les femmes peut s'expliquer par la sexualité précoce, la fréquence élevée des IST susceptibles de favoriser la transmission du SIDA, la situation sociale des femmes. Dans notre étude le taux séropositif au VIH chez les femmes était classiquement plus élevé avec une différence de 17,48% par rapport au taux chez les hommes.

TRAORÉ S et BOUGOUDOGO ont trouvé respectivement que 57,66% et 58,8% étaient des femmes. [23, 24]

5.2.2. Séroprévalence et évolution des sérotypes du VIH.

La séroprévalence globale de notre étude était de 28,13%. Ce résultat concorde avec celui de BOUGOUDOGO qui a trouvé une séroprévalence de 31,7% sur 16545 échantillons à L'INRSP de Bamako. [24]

Cette prévalence est supérieure à celle trouvée par TRAORÉ B (4,98%) sur 14904 échantillons au CNTS de Bamako. [25] Ceci s'explique par le fait des caractères différents des structures. Le CNTS n'est pas un centre de diagnostic du VIH, il reçoit des échantillons de sang apparemment sains dans le cadre du dont de sang. Par contre le laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ en plus des sérums de patients apparemment sains pour le dépistage volontaire, reçoit des sérums susceptibles de porter le VIH pour le diagnostic biologiques.

La séroprévalence était plus était plus élevée chez le sexe féminin 16,52% contre 11,61% chez le sexe masculin. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette séroprévalence élevée, l'appareil génital chez la femme prédispose plus aux IST qui sont aussi une porte d'entrée du VIH, notamment la transmission du VIH par voie sexuelle serait plus efficace de l'homme à la femme et qu'elle l'est à leur plus jeune âge.

OUEDRAOGO a trouvé dans son étude une séroprévalence de 17,6% pour le sexe féminin contre 14,5% pour le sexe masculin. [26]

Durant notre étude nous avons observé une légère diminution du nombre de patients infectés par le VIH avec un taux moins élevé en 2009 où 4458 patients ont été dépistés dont 1077 positifs, soit 24,16% avec 97,21% cas de VIH-1. Ceci explique l'activité croissante de sensibilisation et de mobilisation aux lendemains de l'adoption de l'IMAARV (Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux).

Ce résultat concorde avec celui de BALKISSA qui a trouvé une prédominance du VIH-1 avec 89,10%, le VIH-2 était à 3,10% et VIH-1+2 était à 2,70%. [27]

Au Sénégal, la cohorte de l'ISAARV sur 170 patients éligibles rapporte 93,30% de porteurs du VIH-1 ; 4,40% du VIH-2 et 2,20% de la co- infection VIH-1 et VIH-2. [28] Par contre la première enquête effectuée dans le pays par PICHARD et collègues avait trouvé plutôt une prédominance du VIH-2. [10]

Le fait que le VIH-1 ait pu supplanter le VIH-2 serait dû d'une part à sa virulence et d'autre part à son taux faible de transmission verticale du VIH-2 et aussi à sa faible transmissibilité lorsque le porteur est asymptomatique. [29]

Le sexe féminin était le plus touché par les deux types de VIH et la co-infection VIH-1+2.

Le sérotype 1 était plus prédominant par rapport au sérotype 2 et la co-infection. L'évolution des deux sérotypes et la co- infection VIH-1+2 était non constante durant notre étude. Cependant le sérotype 1 restait largement le plus prévalent pendant la période d'étude suivi par le sérotype 2 et la co- infection la plus faible.

Remarque: durant notre étude nous n'avons pas enregistré de cas de discordances des tests utilisés.

Les difficultés rencontrées

- **Difficultés liées au prélèvement**

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

- **Difficultés liées au local et à la gestion des déchets biomédicaux**

- Manque de locaux pour les activités
- Paillasse non-conformes (anciennes paillasse de rangements de médicaments).
- Insuffisances dans la gestion des déchets.

- Manque de local approprié pour le stockage des consommables et réactifs.
- Manque d'équipement pour le stockage des sérums positifs

- **Difficultés liées au personnel**

- Manque de motivation du personnel
- Charge énorme de travail.
- Niveau bas de formation du personnel technique
- Manque de personnel surtout de biologiste

- **Difficultés liées à la technique**

- Mauvais circuit d'acquisition des équipements qui sont réalisés sans associer les techniciens de la biologie.
- Mauvais circuit d'acquisition des consommables et réactifs qui sont réalisés sans associer les techniciens de la biologie.
- Ruptures en consommables et réactifs de laboratoire.
- Mauvaise gestion des consommables et réactifs au niveau des dépositaires et sur les sites d'utilisation.

- **Difficultés liées au rendu des résultats**

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

Concernant les patients de 0 à 18 mois de mères séropositives, il serait préférable de faire leur analyse par PCR (Polymerase Chain Reaction) ; la méthode de diagnostic direct qui déterminerait le statut sérologique car ces sujets pourraient abriter les anticorps anti-VIH circulants de la mère.

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.

La présente étude, portant sur la contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic du VIH a été mise en œuvre par une combinaison de tests rapides chez les patients dépistés au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel TOURÉ.

Les tests de dépistage que nous avons utilisés au cours de notre étude : le DETERMINETM HIV-1/2, l'IMMUNOCOMB II[®], et le GENIE II[®].

- L'assurance qualité au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ est assurée à 89% dans le diagnostic sérologique du VIH.

La séroprévalence globale de notre étude était de 28,13%.

Le dépistage reste une activité essentielle dans le processus de prise en charge des cas ; ceci impose une résolution permanente des problèmes (technique et organisationnel) qui entravent le bon déroulement et la qualité du dépistage au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

Cependant beaucoup reste à faire pour assurer la qualité totale dans le diagnostic du VIH.

Ce faisant, nous recommandons :

Aux personnels du laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ

- Assurer une démarche qualité dans leurs activités de tous les jours ;
- Mise en application du Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) dans tous les laboratoires.

Aux autorités de tutelle du CHU Gabriel TOURÉ

- Assurer la formation continue du personnel du laboratoire.
- Équiper un laboratoire de niveau hospitalo- universitaire et répondant aux normes.
- Mettre en place un système d'assurance qualité comprenant un cadre stratégique et les textes d'applications des normes d'accréditations.
- Élaborer un plan de formation des techniciens à la maintenance des équipements.

7. ANNEXES

7.1. Annexe 1.

CHU GABRIEL TOURÉ

MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ

TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS

Rédigé le :	Par : TOURÉ Issaka	Visa :
Vérifié le :	Par : COULIBALY Aminata	Visa :
Approuvé le :	Par : Dr Souleymane DIALO	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

☒ Document provisoire

☒ Document opérationnel

Destinataires

Le biologiste Responsable	Responsable assurance qualité	Techniciens biologistes	Étudiants FFI
------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------------

Exemplaires :

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie, Biochimie, Hématologie, Parasitologie

Documents Qualité liés

MAQ : MQ

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire des prélèvements sanguins

E : Registre central

1. Buts

Décrire le mode opératoire de la réalisation des prélèvements sanguins.

2. Domaines et personnels concernés

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

3. Abréviations/Définitions

4. Références

GBEA.

5. Contenu

MODE OPÉRATOIRE DES PRÉLÈVEMENTS SANGUINS

1. Principes- Indications

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

2. Prélèvements

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

3. Matériel et Réactifs

- Corps et aiguille de système de prélèvement sous vide.
- tubes de prélèvement sous vide.
- Seringues à usage unique avec aiguille : 5, 10 et 20 ml.
- Tubes pour prélèvement traditionnel : conditionnements standards (5 ou 7ml) et pédiatriques (2ml).
- Garrot.
- Coton hydrophile.
- Alcool à 70° ou Alcool iodé, Bétadine® ...
- Pansements.
- Boîte récupératrice d'aiguilles, poubelle pour déchets contaminés et poubelle pour déchets non contaminés.

NB : avant d'appeler le patient, il est nécessaire de vérifier la présence de tout le matériel indispensable au prélèvement.

4. Mode opératoire

Déroulement du prélèvement sanguin.

Le préleveur, muni du bulletin de demande d'analyse s'assure de l'identité du patient (nom, prénom et date de naissance).

Il s'assure de la conformité des conditions de prélèvement :

- État de jeun.
- Dernière prise de médicaments.
- Autres conditions si nécessaires.

Il s'enquiert de l'existence d'une éventuelle thérapeutique et sollicite, si nécessaire, des informations cliniques complémentaires et note ces informations sur le bulletin de demande d'analyse.

Il sélectionne les tubes à prélèvements (nature, contenance et nombre) en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).

Il identifie les tubes en inscrivant le nom, le prénom, le numéro d'identification et la date.

- Antisepsie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique.
- Pose du garrot et recherche de la veine, à prélever rapidement.
- Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire. Utiliser les tubes à prélèvement en fonction des analyses prescrites (Cf Instructions « Choix des tubes »).
- Desserrer le garrot avant de retirer l'aiguille.
- Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton sec.
- Le patient assure la compression (et non pas la friction) pendant 2 à 3 minutes.

NB : En cas de prélèvement sur différents types de tubes, l'ordre de prélèvement suivant doit être respecté (le code couleur correspond aux anti-coagulants décrits dans le document Instructions

« Choix des tubes »

ROUGE → BLEU → VERT → VIOLET et/ou NOIR → GRIS

Élimination de l'aiguille :

Les aiguilles doivent être obligatoirement éliminées dans le récipient prévu à cet effet (boîte de sécurité), immédiatement après le prélèvement et au vu du patient. Le recapuchonnage est interdit.

5. Hygiène et Sécurité

Le respect des mesures usuelles de précaution est obligatoire pour la manipulation des échantillons biologiques et des réactifs.

Les déchets biologiques sont détruits selon la législation en vigueur.

7.2. Annexe 2.

CHU GABRIEL TOURE

MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ

TITRE : Test de dépistage du VIH par le réactif determine™ HIV-1/2

Rédigé le : Par : TOURÉ Issaka Visa :

Vérifié le : Par : COULIBALY Aminata Visa :

Approuvé le : Par : Dr DIALLO Souleymane Visa :

Modifié le : Par : Visa :

Vérifié le : Par : Visa :

Approuvé le : Par : Visa :

Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par

☒ Document provisoire

☒ Document opérationnel

Destinataires

Le biologiste Responsable	Responsable assurance qualité	Techniciens biologistes	Étudiants FFI
------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------------

Exemplaires : classeur de sérologie

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie

Documents Qualité liés

MAQ : Manuel Qualité

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire de test de dépistage du VIH par détermine HIV-1/2

E : Registre central

1. Buts

Décrire le mode opératoire de test de dépistage du VIH par détermineTM HIV-1/2.

2. Domaines et personnels concernés

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

3. Abréviations/Définitions

4. Références

GBEA.

5. Contenu

Sérodiagnostic de HIV par le DétermineTM HIV-1/2



Figure N°14 : Kit du test DétermineTM HIV-1/2.

Procédure d'analyse

Le nombre souhaité de test peut être détaché du carton de 10 tests en pliant et déchirant au niveau de la perforation.

Remarque : Détacher les tests en commençant par la droite du carton de test afin de préserver le numéro de lot apparaissant sur la gauche de ce carton.

- Enlever la protection plastique de chaque test.
- Pour les échantillons de sérum ou de plasma :

a. Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).

b. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

- Pour les échantillons de sang total (ponction veineuse) :

a. Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole flèche).

b. Attendre une minute, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.

c. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

- Pour les échantillons de sang total (bout de doigt) :

a. Distribuer 50µl d'échantillon (avec un tube capillaire contenant de l'EDTA) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).

b. Attendre que le sang soit absorbé par la zone de dépôt, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.

c. Attendre 15minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

Contrôle de qualité

Un contrôle de la procédure annoté "Control" est inclus dans ce système afin d'assurer la validité du test. Si la barre de contrôle ne vire pas au rouge à la fin du test, le résultat du test n'est pas valide et l'échantillon doit être ré analysé.

Interprétation des résultats

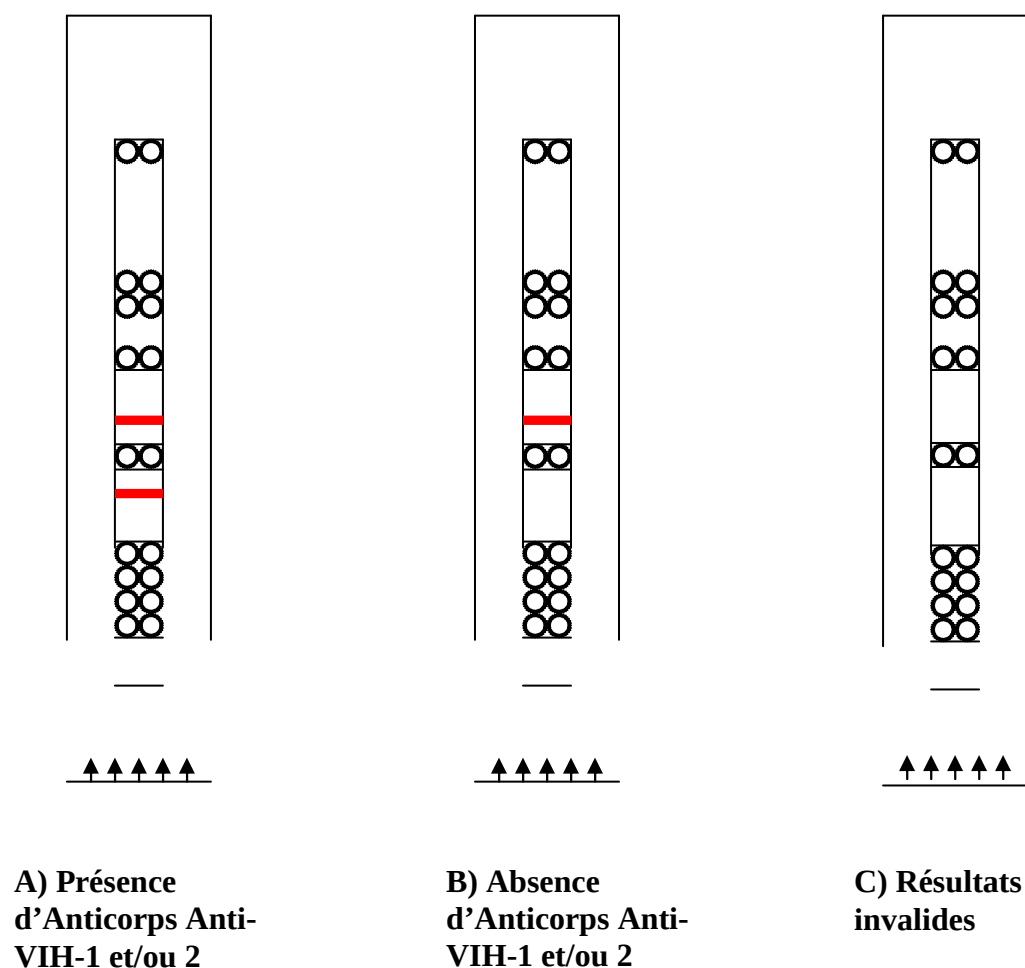


Figure N°15 : Interprétation des résultats.

Positif (deux barres)

Les barres rouges apparaissent dans la fenêtre/contrôle (annotée « control »), et la fenêtre/patient (annotée « patient ») sur la bandelette. Toute couleur rouge visible dans la fenêtre/patient doit être interprétée comme un résultat positif.

Négatif (une barre)

Une barre rouge apparaît dans la fenêtre/contrôle, la barre rouge de la fenêtre/patient n'apparaissant pas sur la bandelette.

Non valide (pas de barre)

Si la barre rouge n'apparaît pas dans la fenêtre/contrôle de la bandelette et même si une barre rouge apparaît dans la fenêtre/patient de la bandelette, le résultat n'est pas valide et ce test doit être recommencé. Si le problème persiste, Contacter votre service Client Abotte.

Remarques : Le résultat du test est positif même si la barre- patient est plus claire ou plus foncée que la barre- contrôle.

Si un résultat non valide venait à se répéter ou pour tout support technique, Contacter votre service client Abbott. [30]

7.3. Annexe 3.

CHU GABRIEL TOURÉ **MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ**

TITRE : Test de dépistage du VIH par Immunocomb II® :

Rédigé le :	Par : TOURÉ Issaka	Visa :
Vérifié le :	Par : TRAORÉ Allaye	Visa :
Approuvé le :	Par : Pr Souleymane DIALLO	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

☒ **Document provisoire**

☒ **Document opérationnel**

Destinataires

Le biologiste Responsable	Responsable assurance qualité	Techniciens biologistes	Étudiants FFI
------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------------

Exemplaires : classeur de sérologie

- **Classeur Assurance Qualité**
- **Classeur Laboratoire de sérologie**

Documents Qualité liés

MAQ : Manuel Qualité

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire de test de dépistage du VIH par Immunocomb II

E : Registre central

1. Buts

Décrire le mode opératoire de test de dépistage du VIH par Immunocomb II.

2. Domaines et personnels concernés

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

3. Abréviations/Définitions

4. Références

GBEA.

5. Contenu

Sérodiagnostic du VIH par l'Immunocomb II®

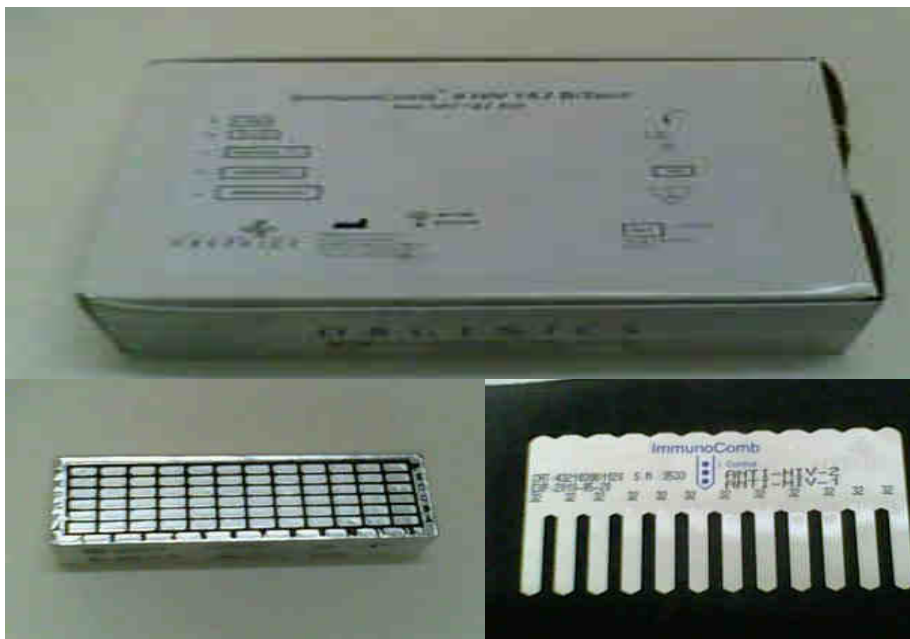


Figure : Kit du test d'Immunocomb II HIV -1/2.

Procédure :

Equipement nécessaire :

- Pipette de précision avec embout à usage unique pour la distribution de 50µl ;
- Ciseaux ;
- Chronomètre de laboratoire ou montre.

Préparation du test :

Equilibrer réactifs et échantillons à tester à température ambiante et exécuter le test à température ambiante (22°-26 °C).

Préparation du bac de développement :

Pré- incuber le bac de développement 20 minutes dans une étuve ou au bain marie à 37 °C ; ou bien laisser équilibrer à température ambiante (22°-26 °C) pendant 3 heures.

Recouvrir la table de travail de papier absorbant à traiter, une fois le test achevé, en tant que déchets à risque biologique. Homogénéiser les réactifs par retournements successifs du bac de développement.

Remarque : Ne pas retirer le film d'aluminium recouvrant le bac de développement avant le moment indiqué dans le mode opératoire. Alors seulement, perforer le film à l'aide d'un embout de pipette à usage unique, ou à l'aide du perforateur fourni avec la trousse.

Préparation du peigne:

Attention : Afin de garantir le bon fonctionnement du test, ne pas toucher les dents du peigne.

1. Découper la pochette d'aluminium au niveau de l'encoche prévue à cet effet.
Sortir le peigne délicatement
2. Peigne et bac de développement peuvent être utilisés soit entièrement soit partiellement. Pour une utilisation partielle du peigne :
 - a. Déterminer le nombre de dent nécessaire pour tester échantillons et contrôles, en comptant une dent par test. Afin de permettre l'identification des dents en cas

d'utilisation partielle du peigne, chaque dent porte le code « 32 » correspondant à la trousse HIV-1&2 Bi Spot.

b. Arquer le peigne jusqu'à le faire céder ou le sélectionner à l'aide de ciseaux afin de détacher le nombre de dents requises (Nombre d'échantillons plus les deux contrôles).

c. Ranger la section du peigne non utilisée dans la pochette aluminium avec le sachet desséchant. Sceller hermétiquement la pochette (par exemple à l'aide d'un trombone) afin de prévenir toute humidité. Conserver le peigne dans son conditionnement d'origine entre 2 et 8 °C pour un usage ultérieur.

Mode opératoire :

Réaction Antigène – Anticorps (compartiment A du bac de développement)

1. Prélever 50 µl d'un échantillon à tester. Avec l'embout de la pipette ou le perforateur, perforer le film d'aluminium d'un puits du compartiment A. Distribuer l'échantillon en aspirant et refoulant plusieurs fois afin d'assurer une bonne homogénéité. Jeter l'embout de la pipette.

2. Répéter l'étape 1 pour les autres échantillons ainsi que pour le contrôle positif et le contrôle négatif fourni avec la trousse. Utiliser un nouveau puits du compartiment A et un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon ou contrôle.

3. Insérer le peigne (face imprimée vous faisant face) dans les seuls puits du compartiment A contenant échantillons et contrôles.

Homogénéiser : Réinsérer plusieurs fois le peigne dans les puits.

- Incuber pendant 10 minutes exactement. Homogénéiser 2 fois supplémentaires pendant l'incubation. A l'approche des 10 minutes, perforer le film recouvrant les puits du compartiment B à l'aide du perforateur en veillant à ne pas perforer plus de puits qu'il n'est nécessaire

- Au terme des 10 minutes, retirer le peigne du compartiment A.

Absorber le liquide résiduel : appliquer la pointe des dents du peigne sur du papier absorbant propre. Ne pas mettre la face réactive des dents au contact du papier absorbant. Lavage (compartiment B)

1. Insérer le peigne dans les puits du compartiment B. Agiter : réinsérer plusieurs fois le peigne dans les puits pendant 10 secondes. Afin d'assurer un lavage correct, répéter l'agitation plusieurs fois. Perforer le film du compartiment C. Au terme de 2 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel comme décrit dans le paragraphe 3c.

Conjugué (Compartiment C)

2. Insérer le peigne dans les puits du compartiment C. Homogénéiser le peigne plusieurs fois comme dans l'étape 3a. Incuber pendant 10 minutes. Homogénéiser comme dans l'étape 3b. Perforer le film du compartiment D. Au terme de 10 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Conjugué (Compartiment D)

3. Insérer le peigne dans les puits du compartiment D. Agiter comme dans l'étape 4. Incuber pendant 2 minutes. Perforer le film du compartiment E. Au terme des deux minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Lavage (Compartiment E)

1. Insérer le peigne dans les puits du compartiment E. Agiter comme dans l'étape 4. Incuber pendant 2 minutes. Perforer le film du compartiment F. Au terme des 2 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Révélant (compartiment F)

2. Insérer le peigne dans les puits du compartiment F. Homogénéiser comme dans l'étape 3a. Incuber pendant 10 minutes. Homogénéiser comme dans l'étape 3b. Au terme des 10 minutes retirer les peignes.

Réaction d'arrêt (Compartiment E)

3. Insérer les peignes dans le compartiment E. Après 1 minute, retirer le peigne et laisser sécher à l'air.

Elimination des déchets

Traiter et éliminer les bacs de développement utilisés, les contrôles, les embouts de pipette, le papier absorbant et les gants en tant que déchets à risque biologique.

Résultats : Validation

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, les 3 conditions suivantes doivent être remplies (Voir figure 2)

1. Le contrôle positif doit présenter 3 Spots sur la dent.
2. Le contrôle négatif doit présenter uniquement le Spot de contrôle interne (Spot supérieur)
3. Tout échantillon testé doit présenter le Spot de contrôle interne (Spot supérieur), confirmant un dépôt correct de l'échantillon

Si une des conditions n'est pas remplie, les résultats ne doivent pas être validés.

Dans ce cas, échantillons et contrôles doivent être ré testés.

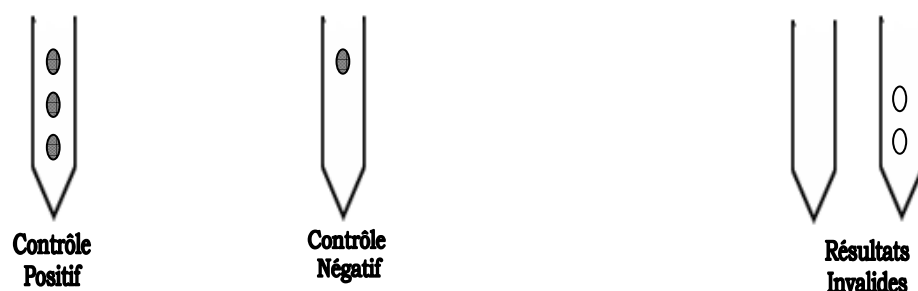


Figure N°16 : Validation des résultats.

Lecture des résultats :

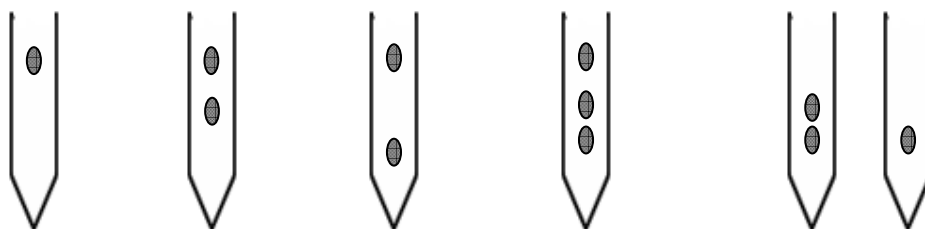
Lorsqu'une dent affiche uniquement le Spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 (Figure a).

Le Spot médian, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-2 (Figure b).

Le Spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 (Figure c).

Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un Spot secondaire faible associé à un Spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue.

Le Spot inférieur et ou médian, circulaire et uniformément coloré, mais sans le spot supérieure (CONTROL) indique un résultat invalide.



a) Absence
d'anticorps
anti-VIH

b) Présence
d'anticorps
anti-VIH-2

c) Présence
d'anticorps
anti-VIH-1

d) Présence
d'anticorps
anti-VIH-1 et 2

e) Résultats
invalides

Figure N°17 : Résultats du test IMMUNOCOMB II[®] HIV1 & 2.

IMPORTANT

Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 doit être obligatoirement confirmé par un test de confirmation.

Attention toute trace de peigne doit être considérée comme une réaction positive et doit faire l'objet d'investigations complémentaires.

Document des résultats

Les Spots colorés développés sur les peignes sont stables et permettent de conserver les peignes pour archivage. **[31]**

7.4. Annexe 4.

CHU GABRIEL TOURÉ MODE OPÉRATOIRE NORMALISÉ

TITRE : Test de dépistage du VIH par Génie II®

Rédigé le :	Par : TOURÉ Issaka	Visa :
Vérifié le :	Par : MAIGA Hamadoun	Visa :
Approuvé le :	Par : Dr Souleymane DIALLO	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

☒ Document provisoire

☒ Document opérationnel

Destinataires

Le biologiste Responsable	Responsable assurance qualité	Techniciens biologistes	Étudiants FFI
------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------------

Exemplaires : classeur de sérologie

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie

Documents Qualité liés

MAQ : Manuel Qualité

P : Procédure d'hygiène et sécurité

MO : Mode opératoire de test de dépistage du VIH par Génie II

E : Registre central

1. Buts

Décrire le mode opératoire de test de dépistage du VIH par Génie II[®].

2. Domaines et personnels concernés

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

3. Abréviations/Définitions

4. Références

GBEA.

5. Contenu

Sérodiagnostic du VIH par le Génie II[®]

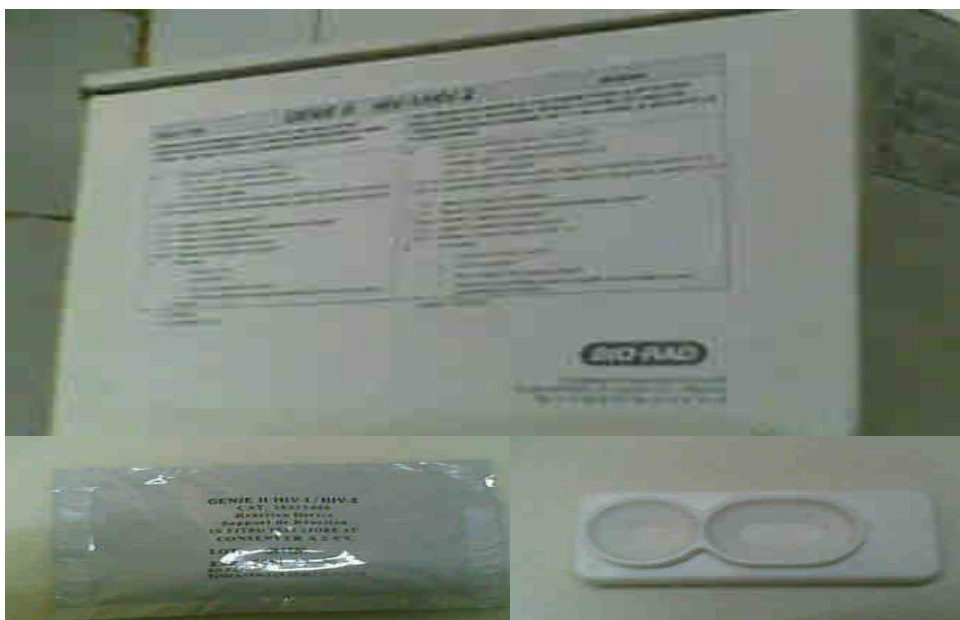


Figure N°18 : Kit du test Génie II[®] HIV-/HIV-2.

Manipulation des échantillons

Sérums et plasmas peuvent être testés indifféremment. Les échantillons peuvent être conservés 7 jours entre 2° et 8° C. Au-delà conserver les échantillons à -20° C ou moins.

Centrifuger les échantillons après décongélation, et tester le surnageant.

Eviter les congélations et décongélation répétées.

Procédure

Préparation du test

- Lire attentivement la notice avant de commencer à manipuler.
- Equilibrer tous les réactifs et les supports de réaction à température ambiante (22°-26° C) pendant 3 heures, ou pré- incuber 15 minutes à 37° C.
- Inclure le contrôle Positif et le contrôle Négatif fournis avec la trousse pour l'ensemble des tests effectués au cours d'une même journée de travail et lors de la mise en œuvre de tout nouveau lot de réactifs.
- Sortir de leur pochette d'aluminium le nombre requis de supports de réaction Génie II HIV-1/HIV-2.
- Remplacer le bouchon du flacon de la solution d'arrêt par son compte gouttes.
- Exécuter le test à la température ambiante.

Mode opératoire

Capture des anticorps anti-VIH

Distribuer 3 gouttes (150 µl) de réactif # 1 (Diluant Echantillon) dans un microtube.

Ajouter 50 µl d'échantillon ou de contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetages successifs. Transférer immédiatement la totalité du contenu du microtube dans le Puits Echantillon A du support de réaction. Jeter l'embout de la pipette et le microtube en tant que déchets à risque biologique. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes). Les étapes suivantes sont réalisées dans le Puits de Réaction B seulement

Liaison du conjugué

Ajouter 3 gouttes de réactif # 2 (Conjugué Streptavidine/PAL) dans le Puits de Réaction B. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes)

Lavage : Remplir à ras bord le Puits de réaction B avec le réactif # 3 (solution de lavage). Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 1 minute)

Révélation : Ajouter 2 gouttes de réactifs # 4 (Substrat Chromogénique) dans le Puits de Réaction B. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes)

Réaction d'arrêt : Remplir à ras bord le Puits de Réaction B avec le réactif # 5 (Solution d'arrêt). Attendre l'absorption complète de la solution, et lire le résultat.

Interprétation des résultats

Validation : Examiner la membrane au niveau du Puits de Réaction B. Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, le contrôle interne doit être présent sur chaque support de réaction. L'absence de contrôle interne est considérée comme un résultat invalide, et le test doit être répété.

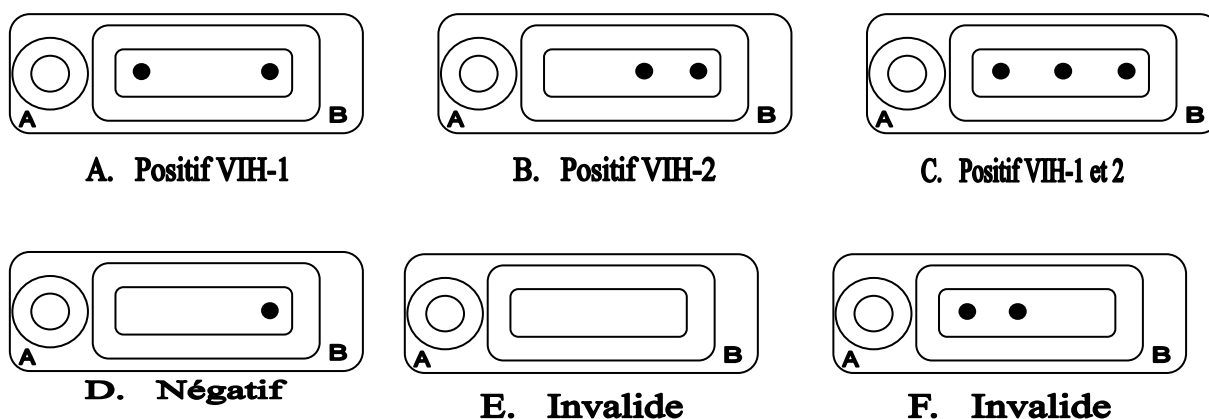


Figure N°19 : Validation et interprétation.

Résultats

Positif VIH-1: l'apparition du Spot VIH-1 de gauche avec le Spot de contrôle interne indique la présence d'anticorps anti- VIH-1.

Positif VIH-2: l'apparition du Spot VIH-2 du milieu avec le spot de contrôle interne indique la présence d'anticorps anti- VIH-2.

Positif VIH-1+2: l'apparition des trois Spots indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec des méthodes complémentaires pour une différenciation plus poussée entre VIH-1 et VIH-2.

Résultat Négatif : l'apparition du Spot de contrôle interne seul indique l'absence d'anticorps anti- VIH.

Toute trace de spot coloré doit être suspectée de représenter un résultat positif et doit faire l'objet d'investigations supplémentaires.

Conservation des composants non utilisés

Ranger contrôles, réactifs et fiche technique dans la boîte d'origine, et conserver entre 2° et 8° C. [31]

7.5. Annexe 5. Exemple de fiche de notification individuelle suivie PVVIH

FICHE DE NOTIFICATION - EXAMENS DE LABORATOIRE

Identification du Patient :

Site de prescription :Numéro de dossier du patient :

Age Ou Date de naissance :...../...../..... Sexe : M /___/ F /___/

Informations cliniques :

Type VIH : 1 /___/ 2 /___/ 1+2 /___/

Traitement ARV : Initiation /___/ Si traitement en cours, durée /___/ mois

Schéma thérapeutique (si traitement en cours) :.....

.....

Examens demandés :

Hématologie : Numération formule sanguine /___/

Biochimie : Glycémie /___/ Créatininémie /___/ Transaminase/___/

Cholestérol /___/ Triglycérides /___/ Amylasémie /___/

Immunologie : CD4 /___/

Virologie : Charge Virale /___/

Autre : Test de grossesse /___/

Identification du prescripteur :

Nom :

Prénom :

Signature et cachet

Date : /..... /.....

Tube EDTA pour prélèvement de NFS, de CD4 et de Charge Virale

Tube sec pour prélèvement de glycémie à jeun, transaminases, créatininémie

7.6. Annexe 6.

TABLEAU N°XII : Durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés

EXAMENS BIOLOGIQUES ET ECHANTILLON	TEMPERATURE DE CONSERVATION	DUREE
Marqueurs tumoraux	- 18°C	1 an
Sérologie bactérienne	- 18°C	1 an
Sérologie virale	- 18°C	1 an
Sérologie parasitaire	- 18°C	1 an
Biologie moléculaire :		
Mycobactéries	- 80°C	1 an
Virus de l'hépatite B	- 80°C	1 an
Virus de l'hépatite C	- 80°C	1 an
Chlamydia	- 30°C	1 an
Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)	- 80°C	1 an
Diagnostic prénatal :		
Dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21 fœtale dans le sang maternel.	- 18°C	1 an
Diagnostic des Embryofœtopathies infectieuses.	- 80°C	3 ans
Souches bactériennes	- 80°C	3 ans

7.7. Annexe 7. Définition des termes

Laboratoire de biologie médicale

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

Analyses de biologie médicale

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

Ressources humaines

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

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

-Biologiste

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

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

-Technicien

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

-Secrétaire

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

- Personnel de surface

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

Assurance de qualité

- **Qualité** : la qualité est l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur. Dans le domaine de la biologie médicale, c'est l'adéquation entre les moyens mis en œuvre et les informations attendues par le médecin prescripteur, ainsi que la réponse aux attentes du patient.

- **Maîtrise de la qualité** : ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour qu'un produit ou un service satisfasse aux exigences de qualité. Dans le domaine de la biologie médicale, l'assurance de qualité permet de maîtriser l'organisation des tâches conduisant à la qualité et couvre notamment les étapes pré-analytiques, analytiques et post-analytiques.

- **Contrôle de qualité externe ou CQE** : également connu sous le nom d'évaluation externe de qualité. Il correspond au contrôle, par un organisme extérieur, de la qualité des résultats fournis par un laboratoire. Ce contrôle rétrospectif permet une confrontation inter laboratoires en vue d'améliorer la qualité du travail de l'ensemble des participants. L'organisme extérieur adresse

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

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

Résultats ou comptes rendus d'analyses

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

Confidentialité

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

Echantillons et prélèvements

- **Prélèvement** : acte permettant l'obtention d'un échantillon biologique.

- **Echantillon biologique** : échantillon obtenu par recueil ou acte de prélèvement et sur lequel vont être effectuées des analyses de biologie médicale.

- **Echantillon de calibrage** : échantillon de composition définie qualitativement et quantitativement, adapté à la méthode utilisée, pour un ou plusieurs constituants, souvent par rapport à des étalons de référence et destiné au calibrage des analyses dans certaines disciplines biologiques.

- **Echantillon de contrôle** : échantillon adapté à la méthode utilisée et destiné à apprécier l'exactitude et la précision des résultats.

Evaluation

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

Procédures

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

Qualification

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

Système analytique

Ensemble des moyens analytiques constitués d'une méthode, d'un appareil, d'un (ou plusieurs) logiciel(s), d'un (ou plusieurs) réactif(s), d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de calibrage, d'un (ou plusieurs) échantillon(s) de contrôle, qui permet de déterminer la nature d'un constituant ou sa concentration selon un mode opératoire défini.

Transférabilité

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

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

Valeurs de référence

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

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

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

Validation

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

- **La validation analytique** comporte la vérification de la conformité des conditions d'exécution aux procédures et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.

- **La validation biologique** est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses d'un même dossier, et leur confrontation avec les résultats antérieurs.

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

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

Traçabilité

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

7.8. Annexe 8. Chronogramme des activités

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

		2011																
		2008	2009	2010														
Temps				A	S	O	N	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	
Activités				D				N	D									
Paillasse				A				D										
Bibliographies				J		F				M		J						
Protocole						F		M										
Analyse des données										M				J				
Rédaction de la thèse										J						A		
Lecture de la thèse										O								
Correction de la thèse										D		F						
Soutenue et archivée										F								

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

8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1. Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (décision 09-472/MS-SG du 02 Avril 2009 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère de la santé Bamako Rép. MALI).

2. Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale (Arrêté du 2 Novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses biomédicales du Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville - France).

3. World Health Organization on behalf of the U.S. Centers for Disease Control and Prevention ; the World Health Organization; the Clinical and Laboratory Standards Institute®.2009 Laboratory Quality Management System - Training toolkit.

4. TCHALLA. AM., 2004. Etude bibliographique sur l'infection au VIH au MALI. Point sur les études réalisées de 1983 à Février 2003. Thèse Pharm. N° 04. P - 43. Bamako MALI.

5. GYLLE. Y., in : www.google.fr / rubrique / santé/SIDA (Décembre 2007).

6. BARIN. F., 2002. Retroviridae : Les virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH). In MAMMETTE A. Virologie Médicale collection Azay, Presses Universitaires de Lyon, chap. 46.

7. ONUSIDA., 2009. Le point sur l'épidémie du SIDA. In www.Unaids.org. Décembre 2009.

8. <http://documentation.Ledmed.org/IGM/html/doc-10797.html> (Décembre 2007).

9. GAUTIER-CHARPENTIER. L., VAN DE PERRE. P., SIMON. F., BRUN-VEZINET. F., 1997 - 1998. Stratégies du Diagnostic des infections VIH ; P 4 - 13.

10. PICHARD. E., GUINDO. A., GROSSETETE. G., FOFANA. Y et coll., 1998. L'infection par le VIH au Mali: Médecine Tropicale; Vol.48 ; P345 - 49.

11. La REVUE de MED'AF, 2002. Mali: Médecine Tropicale; édition trimestriel, N°1, juillet 2002. ; P345-49.

12. L'INVS travaille actuellement à une étude pour la France en relations avec les équipes ayant travaillé sur les Etats-Unis.

13. Rapport de l'atelier de formation en gestion des programmes d'assurance de qualité pour le diagnostic VIH. Bamako- MALI- 23-27 Avril 2001 P 4.

14. BARRE. S., Virologie fondamentale de l'infection à VIH in GIRARD P .MET AL- sida Edition Doin Paris 1998.

15. ONUSIDA/ OMS. Rapport sur l'épidémie mondiale de l'infection à VIH SIDA. Genève (Suisse) Novembre 2002.

16. AGHOKENG. A.F., EWANE. L., AWAZI. B., NANFACK. A., DELAPORTE. E., PEETERS. M., ZEKENG. L. Evaluation of Four Simple/ Rapid Assays and Two Fourth-Generation ELISAs for the Identification of HIV Infection on a Serum Panel Representing the HIV-1 Group M Genetic Diversity in Cameroon, **ACQUIR.J.** Immune Defic. Syndr., 37, P1632 - 40.

- 17. ROUET. F., EKOUEVI. DK., INWOLEY. A., CHAIX. ML., BURGARD. M., BEQUET. L., VIHO. I., LEROY. V., SIMON. F., DABIS. F., ROUZIOUX. C.** Field evaluation of a rapid human immunodeficiency virus (HIV) serial serologic testing algorithm for diagnosis and differentiation of HIV type 1 (HIV-1), HIV-2, and dual HIV-1-HIV-2 infections in West African pregnant women , J. Clin. Microbiol., 2004, 42, P4147-53.
- 18. SCHOPPER. D., VERCAUTEREN. G.** Testing for HIV at home : what are the issues? , AIDS., 1996, 10, P1455-65.
- 19. TRAORE. S.** Contribution à l'étude de la séroprévalence du SIDA chez les groupes à risque à Bamako Thèse de Pharm. Bamako-1987 N :87-P-2.
- 20. WALENSKY. R.P., WEINSTEIN. M., KIMMEL. A.D and al,** 2005. « Routine human immunodeficiency virus testing: an economic evaluation of current guidelines », Am J Med 2005; P 118, 292 - 300.
- 21. POINT SUR LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DU VIH AU MALI.** Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM III. Déc. 2001 CPS.
- 22. ORS Ile De France,** 2004, avril 2006. Les connaissances, attitudes, croyances et comportements face au VIH/sida aux Antilles et en Guyane en 2004, avril 2006, P 181.
- 23. TRAORÉ. S., 2009.** Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ de 2006 à 2008 Thèse Par. N°.
- 24. BOUGOUDOGO. D., 2008.** L'évolution des sérotypes de VIH de 1998 à 2007 à l'INRSP Thèse Méd. N°66.

- 25. TRAORE. B., 2002.** Résultat épidémiologiques de l'utilisation de cinq techniques de dépistage du VIH au CNTS de Bamako, Thèse de Pharm. N°27.
- 26. OUEDRAOGO. A.E., 2001.** Etude de la séroprévalence des IST/VIH chez les consultants des Centres de Santé et de Promotion Sociale (CSPS) de la ville de Bobo Dioulasso Thèse de Méd. Bamako N°.
- 27. BALAKISSA. G.K., 2003.** L'hépatite C chez les donneurs de sang et les malades du SIDA à Bamako. Thèse de Pharm. N°82 ; P 24.
- 28. INITIATIVE SENEGALAISE D'ACCES AUX MEDICAMENTS ARV (ISAARV) :** Analyse économiques, sociales, comportementales et médicales. ANRS collection science et SIDA, Paris 2002 ; P31-39.
- 29. SANOGO. M., 2004** Enquête séro- épidémiologique sur l'infection par le VIH au SESAC de 2001à 2003. Thèse de Pharm., Bamako, N°65 ; P 65.
- 30. LABORATOIRE ABBOTT DIVISION DIAGNOSTIC 12,** rue de la Couture SILIC 203 F-94518 RUNGIS Cedex.
- 31. ORGENICS France S.A.** 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France. 2006.
- 32. SANGARE. S.A., 2006** Démarche qualité au laboratoire de bactériologie CVD de l'hôpital Gabriel TOURE Février à Mars 2006. Thèse de Pharm., Bamako, N°75.
- 33. OUEDRAOGO. H.W., 2005** Evaluation des performances de sept tests de dépistage du VIH utilisés au CNTS de Bamako. Thèse de Pharm., Bamako, N°18.

- 34. LAVIGNE. J.P., JEANDROT. A., SOTTO. A.** Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires. Spectra Biologie N°151. Avril 2006.
- 35. ONU SIDA.** Méthode de dépistage du VIH Collection Meilleurs Pratiques Novembre 1997.
- 36.** http://fr.wikipedia.org/wiki/Assurance_qualite
- 37.** www.unilabs.fr/Infos-Patients/La-Qualite/
- 38.** <http://www.pasteur.mg/IMG/pdf/demqual.pdf>
- 39.** http://www.sante.gouv.fr/htm/info_pro/gbea/an_assurance.htm#haut
- 40.** <http://www.labodvb.com/ManuelQualite.pdf>
- 41.** [http://www.sante.gov.ma/Departements/INH/Projet L212/Atelier/Assurance securite/Secu au labo Hancali.pdf](http://www.sante.gov.ma/Departements/INH/Projet_L212/Atelier/Assurance_securite/Secu_au_lab_Hancali.pdf)
- 42.** www.lbj.fr MANUEL QUALITE

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom: TOURÉ

Prénom: Issaka

Email : retouabel@yahoo.fr

Tél : 00223 76209659/ 00223 76112215.

Titre de la thèse: Contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic du VIH au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

Année : 2010 - 2011

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- stomatologie.

Secteur d'intérêt: Virologie, Médecine.

FACTS

Name: TOURE

First name : Issaka

Email : retouabel@yahoo.fr

Phone : 00223 76209659/ 00223 76112215.

Title of thesis : Contribution to the quality assurance in the diagnosis of the HIV at the laboratory of CHU Gabriel TOURE

Year : 2010 - 2011

City of defens : Bamako

Place of deposit: Library of the Medical Faculty of Pharmacy and Odonto- stomatology.

Area of interest : Virology, Medicine

Résumé :

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

Le diagnostic sérologique du VIH est à présent le moyen sûr et rapide de dépistage du sida chez l'adulte et présente aussi tout son intérêt dans la prévention et le traitement du sida.

Notre objectif était de décrire quelques méthodes utilisées au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ d'évaluer le laboratoire et d'analyser certaines caractéristiques socio- démographique de la maladie sur un total de 15969 échantillons examinés au cours de la période 2007 à 2009.

Il s'agit d'une étude rétrospective pendant les trois premières années de 2007 à 2009 et prospective pendant la quatrième année en 2010. Cette étude portait sur des malades hospitalisés ou non et des volontaires référées au laboratoire pour un dépistage ou une confirmation d'infection au VIH.

Au terme de cette étude nous avons trouvé 4476 cas de positivité aux tests VIH sur une population 15969 patients, soit une séroprévalence de 28,13% parmi ceux-ci, 58,82% de femmes et 41,18% d'hommes. Le type VIH-1 a prédominé avec 96,22% de l'échantillon (n = 4307cas) suivi du VIH-2 avec 2,49% (n =111 cas) et la co- infection VIH-1+VIH-2 qui a représentée 1,29% (n = 58 cas).

Cette étude sur le diagnostic sérologique des infections à VIH et SIDA dans une structure hospitalière comme le CHU Gabriel TOURÉ permettra de rehausser sans doute la qualité des dépistages dans les Laboratoires.

Cependant beaucoup reste à faire en matière d'assurance qualité.

Mots clés : Assurance qualité, VIH, diagnostic sérologique,

Summary :

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

The diagnosis serologic of the VIH is now the sure and fast means of tracking of the AIDS in the adult and is also all of his interest in the prevention and the treatment of the AIDS.

Our objective was to describe some methods used at the laboratory of the CHU Gabriel TOURE to evaluate the laboratory and to analyze this some characteristic socio-demographic of the disease on a total of 15969 samples collected 2007 to 2009.

It is retrospective study during the first three years 2007 to 2009 and prospective during the fourth year in 2010. This study related to in-patients or not and referred volunteers to the laboratory for a tracking or a confirmation of infection with the VIH. At the end of this study we found 4476 cases of positivity to VIH tests on a population 15969 patients, that is to say a seroprevalence of 28,13 % among those, 58,82 % of women and 41,18 % of men. The HIV-type 1 has prevailed with 96,22 % of the sample (N = 4307 cases) follow-up of VIH-2 with 2,49% (N = 111 case) and the Co infection VIH-1+HIV-2 which accounted for 1,29% (N = 58 cases). This study on the diagnosis serologic of the infections with VIH and AIDS in a hospital structure as the CHU Gabriel TOURE will make it possible to undoubtedly raise the quality of trackings in the Laboratory.

However much remains to be made as regards quality assurance.

Key words: Quality assurance, VIH, diagnosis serologic, Bamako

SERMENT DE GALIEN



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

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

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

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

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

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

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

Je le jure!

