

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 VIRUS DE L'HÉPATITE VIRALE B AU LABORATOIRE DU CHU  
GABRIEL TOURÉ**

## THESE

Présentée et soutenue publiquement le / /

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

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

Par

**COULIBALY Aminata**

## JURY

Président

Pr Soukalo DAO

Juges

Mr Seydou S. DIARRA

Dr Samba Adama SANGARE

Co- directeur de thèse

Pr Souleymane DIALLO

Directeur de thèse

Pr Flabou BOUGOUDOGO

**DEDICACES**

Après avoir remercié « **ALLAH** » : le **TOUT PUISSANT, le CLEMENT, le MISERICORDIEUX**, Paix et salue sur le **prophète MOHAMED.AMEN !**

La seule véritable force qui crée, guide, protège, console et ne demande que peu de choses en retour à savoir la reconnaissance de son unicité et la dévotion pour elle, la compassion, la bienfaisance et la justice pour les Hommes.

Je te rends grâce pour ton apport à la réalisation de ce travail et m'en remets à toi pour les challenges à venir.

Que ce travail soit le reflet de ton amour incommensurable pour nous que la gloire te revienne à jamais.

Permet moi de tirer un profit licite de ce travail et accorde-moi le savoir, la sagesse et les vertus qui rendront utile à l'humanité mon bref passage sur terre.

### **A la mémoire de mon père feu Assim COULIBALY**

**(Dors en paix papa).**

Très cher père, j'aurai tellement voulu que tu sois là parmi nous afin de savourer ce moment solennel. Le Tout Puissant t'a vite arraché à notre affection mais sache papa que tes souvenirs restent vivants dans nos esprits. Je suis persuadé qu'en aucun moment tu n'as cessé de nous accompagner avec tes bénédictions. Papa je te dédie ce modeste travail qui a été réalisé avec une affectueuse pensée à toi. Saches que tu nous manques énormément.

Repose en paix cher père et que le Tout Puissant t'accorde le Paradis. Amen !

### **A ma mère Djènèba COULIBALY**

Très chère mère, voici le fruit de la belle éducation que tu as eu à nous procurer. Tous tes enfants à travers ma voix sont très fiers de toi. Ta rigueur et ton honnêteté nous ont toujours été un exemple à suivre. Tu as su nous montrer les règles de bonnes conduites et tu t'es sacrement battue pour que nous puissions réussir. Voici enfin un résultat de tes nombreuses prières et de tes multiples

sacrifices. Tes encouragements et tes bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Ce travail est le témoignage de toute mon affection et de mon profond respect envers toi. Que le Tout Puissant te garde aussi longtemps parmi nous. Amen !

### **A ma tante Rokia Coulibaly**

Certes la mère qui donne naissance n'est pas la seule à aimer son enfant. Très chère tante, je ne cesserai jamais de te remercier pour ta sagesse, ton honnêteté et ta grande générosité. Ce travail est également le fruit de ton encouragement et de tes nombreuses bénédictions. Ton dévouement et ton soutien efficace de tous les jours nous ont permis d'atteindre notre objectif.

Que Dieu nous prête une longue vie pour que tu puisses partager avec nous le fruit de ce travail.

### **A mes frères cadets Gaoussou et Mohamed COULIBALY**

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

### **A mes oncles et tantes**

Badri Coulibaly, Daouda Dembélé, Amadou Bouaré, Amadou Traoré, Madou Camara, Abdoulaye Coulibaly, Tidiane Coulibaly, Korotoumou Coulibaly, Tenin Coulibaly, Djéti Coulibaly, Fanta Dembélé et tous ceux que je n'ai pas cités.

Chers oncles je n'ai pas manqué d'affection paternelle en votre présence.

Merci pour vos encouragements et vos soutiens. Chères tantes merci pour votre affection.

### **A mes grands parents**

Samba, Mohamed, Aminata, Mame, Nassoun, Boré vous m'avez toujours fait preuve de bonne volonté et d'une grande affection dont toute petite- fille peut prétendre. Vos bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Trouvez ici l'expression de mes meilleurs souvenirs et de ma reconnaissance à votre égard. Que la terre soit légère à ceux qui ne sont plus avec nous. Que leurs âmes reposent en paix. Amen !

### **A mes cousines et cousins**

Moctar, Gaoussou, Alassane, Abdoulaye, Massitan, Bintou, Oumar, je ne pourrai pas tout citer du plus grand au plus petit, merci pour vos soutiens. Ce travail est également le votre.

### **A mes amis**

- Mention spéciale à Cheick Oumar KEITA et toute sa famille: merci de m'avoir accepté et pour toute ta confiance en moi, les mots me manquent pour designer ton soutien à mon égard durant toutes ces années.
- A Issaka Touré : Tu as beaucoup représenté pour moi du voisin au compagnon merci ne suffirait pas ce travail est également le tien.
- A Tountou, Oumou, Binette, Ouley, Dolo, Mapi, Kandia, Fabé, Oumou, aux membres du Vatican merci pour tout votre soutien
- A toutes amies de la chambre 207 en 2005:merci pour tous ces beaux souvenirs que Dieu préserve notre amitié.
- A la Renaissance Convergence Syndicale : merci pour tout votre respect.

### **A mes aînés du laboratoire**

## **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. Paix et salue sur le prophète MOHAMED.

Je le fais avec humilité et ferveur:

- Pour ceux qui m'ont donné le meilleur d'eux-mêmes et qui m'ont éveillé aux valeurs sociales ;

- Pour ceux qui, patiemment ont guidé mes pas balbutiants dans la quête du savoir et dans l'appropriation des connaissances qui ont enrichi ce travail ;

- Pour ceux qui m'ont accepté avec mes insuffisances ou qui se sont accommodés à mes exigences.

-A mes parents

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

-A Dr Abdou DOUMBIA président de l'ordre des pharmaciens, vous qui m'avez supporté et soutenu, sachez que ce travail est également le vôtre et veuillez recevoir toute ma reconnaissance.

-A mes proches qui sont morts, que la terre leur soit légère.

-A mes tantes et oncles : merci pour vos encouragements vos soutiens.

-A mes camarades de promotion de la FMPOS «promotion Moussa HARAMA » Merci pour les beaux souvenirs.

-A mes camarades du Lycée Les Cimes. «Un voyage pour l'excellence »

-A mes camarades du laboratoire du CHU Gabriel TOURE.

-A tout le personnel de la pharmacie « LASSANA SAMAKE ».

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

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

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

-A mes aînés du laboratoire du CHU Gabriel TOURE : Dr Cheick F.M.Diabaté, Dr Samba A Sangaré, Dr Tenin Samaké, Dr Aziz, Dr Ousmane, et tous ceux que j'ai pas cité.

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

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

-A tout le corps professoral de la FMPOS

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

-A tous mes enseignants depuis le primaire

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

-A tous les étudiants de la FMPOS

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

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

Merci

**A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT 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 Formation sur le  
VIH/Tuberculose.**

Homme de grandes 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.

**A NOTRE MAITRE ET JUGE**

**Monsieur Seydou Soumaila 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.

**A 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 rigueur, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous ;

Nous apprécions à sa juste valeur, l'intérêt avec lequel vous avez accepté de juger cette thèse.

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 de conférences 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 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.

**A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;**

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

**Directeur général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique ;**

**Responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS).**

**Chevalier de l'ordre du 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.

## **ABREVIATIONS ET SIGLES**

ALAT : Alanine Amino Transférase

ARN : Acide ribonucléique

ASAT : Aspartate Amino Transférase

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

DPM : Direction de la Pharmacie et du Médicament.

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.

HGT : Hôpital Gabriel Touré

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique.

LCR: Liquide Céphalo-Rachidien

NASBA: Nucleic Acid System Based Assay.

RIA: Radio Immuno Assay

SOPs: Standard Operating Procedures.

TP : Taux de Prothrombine

VHB : Virus de l'hépatite B

## PLAN

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

## **TABLE DES MATIERES**

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' L'HÉPATITE VIRALE B.....	27
2.2.1. Historique.....	27
2.2.2. Caractéristiques fondamentales du virus de l'hépatite virale B.....	27
2.2.3. Physiopathologie.....	32
2.2.4. Epidémiologie.....	34
2.2.5. Marqueurs biologiques de l'hépatite virale B.....	39
2.2.6. Les moyens de diagnostic sérologique des infections par le VHB.....	43
3. MATERIELS ET METHODES.....	48
3.1. Cadre d'étude.....	48
3.1.1. Historique.....	48
3.1.2. Organisation.....	48
3.1.3. Laboratoire.....	48
3.2. Population d'étude.....	48
3.3. Type d'étude.....	49
3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	50
3.4.1. Critères d'inclusion.....	50
3.4.2. Critères de non inclusion.....	50
3.5. Aspects éthiques.....	50

3.5.1. Confidentialité.....	50
3.5.2. Mise en place de l'assurance qualité au diagnostic de l'infection HBV..	50
3.6. Échantillonnage.....	51
3.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage .....	51
3.6.2. Taille de l'échantillon.....	51
3.6.3. Variables étudiées.....	51
3.6.4. Collecte des données.....	51
3.6.5. Saisie et analyse des données.....	51
3.7. Conditions de sécurité au laboratoire.....	52
3.8. Optimisation des conditions opératoires.....	53
3.9. Méthode de laboratoire.....	53
3.9.1. Le prélèvement sanguin .....	54
3.9.2. Sérodiagnostic de VHB par le Détermine AgHBs.....	56
3.9.3. Sérodiagnostic du VHB par l'Immunocomb II.....	57
4. RÉSULTATS.....	61
4.1. Résultat d'évaluation de Laboratoire.....	61
4.2. Nombre de dépistages effectués au laboratoire.....	69
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	80
5.1. Du point de vue de la méthode .....	81
5.1.1. Choix des tests de dépistages rapides (TDR).....	82
5.1.2. Avantages du test rapide.....	83
5.1.3. Limites des tests utilisés .....	83
5.1.4. Comparaison entre les tests.....	84
5.2. Du point de vue des résultats.....	85
5.2.1. Résultat de la sérologie VHB par rapport au sexe.....	85
5.2.2. Séroprévalence de l'AgHBs selon la tranche d'âge. ....	85
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	87

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	90
8. ANNEXES.....	95
8.1. Annexe 1. PRÉLÈVEMENT SANGUINS.....	95
8.2. Annexe 2. Test de dépistage du VHB par le réactif determine™ AgHBs..	99
8.3. Annexe 3. Test de dépistage du VHB par Immunocomb .....	104
8.4. Annexe 4. Tableau durée et température de conservation après analyse de certains échantillons biologiques en fonction des examens demandés.....	117
8.6. Annexe 5. Définition des termes.....	118

## **LISTE DES FIGURES**

Figure N°1 : Structure du VHB.

Figure N°2 : Structure génomique du virus de l'hépatite

Figure N°3 : Cycle de multiplication du VHB dans l'hépatocyte.

Figure N°4 : Distribution mondiale de la prévalence du VHB.

Figure N°5 : Evolution des Antigènes et Anticorps en fonction du temps le cas d'un malade « normale ».

Figure N°6 : Bac de développement recouvert d'un film d'aluminium.

Figure N°7 : peigne.

Figure N°8 : Rapport d'évaluation de Laboratoire

Figure N°9 : Répartition des patients selon le sexe de 2008 à 2009.

Figure N°10 : Répartition des patients selon le statut sérologique 2008 à 2009.

Figure N°11 : Répartition des patients selon la tranche d'âge 2008-2009.

Figure N°12 : Répartition des patients selon le sexe 2010

Figure N°13: Répartition des patients selon le statut sérologique en 2010.

Figure N°14 : Répartition des patients selon la tranche d'âge en 2010.

Figure N°15 : Nombre de tests sérologiques réalisés entre 2008-2009 et en 2010 et leurs résultats.

Figure N°16 : Répartition des patients selon la tranche d'âge et le statut sérologique.

Figure N°17 : Répartition des patients selon le sexe et leurs résultats.

Figure N°18 : Kit du test Détermine Ag HBs.

Figure N°19: Interprétation des résultats.

Figure N°20 : Validation des résultats.

Figure N°21 : Résultats du test IMMUNOCOMB II®.

Figure N°22: Composants principaux de la trousse ImmunoComb AgHBs.

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau N°I : Niveau de prévalence du portage chronique selon les zones géographiques du monde

Tableau N° II: Illustration des différents cas possibles d'évolution de l'Hépatite virale B : les marqueurs associés aux différents types de patients.

Tableau N°III : Évaluation des conditions du bâtiment, fluides et généralités

Tableau N°IV : Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire

Tableau N°V: Évaluation des prélèvements et de l'hygiène

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

Tableau N°VII : Évaluation des réactifs et approvisionnement

Tableau N° VIII : Évaluation de la qualité totale

Tableau N°IX : Évaluation des rapports d'activité, analyse et communication du VHB

Tableau N°X : Récapitulatif de tous les paramètres étudiés avec les appréciations

Tableau N°XI : Répartition des patients selon le sexe des patients de 2008-2009.

Tableau N°XII : Répartition des patients selon le statut sérologique 2008-2009

Tableau N°XIII: Répartition des patients selon la tranche d'âge de 2008-2009.

Tableau N°XIV: Répartition des patients selon le sexe 2010.

Tableau N°XV : Répartition des patients selon le statut sérologique en 2010.

Tableau n°XVI: Répartition des patients selon la tranche d'âge en 2010.

Tableau n°XVII : Fréquence de la réalisation de l'AgHBs selon l'année.

Tableau N°XVIII: Répartition des patients selon la tranche d'âge et le statut sérologique.

Tableau N°XIX: Répartition des patients selon le sexe du patient et le résultat de l'AgHBs.

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

## **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 permette 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'Hépatite Virale B (VHB). C'est pourquoi nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

### **1.1. OBJECTIF GÉNÉRAL**

Contribuer à l'assurance qualité dans le diagnostic sérologique du Virus de l'Hépatite Virale B au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ.

### **1.2. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES :**

- Étudier l'assurance qualité dans le domaine de la biologie médicale ;
- Evaluer le laboratoire ;
- Effectuer le diagnostic sérologique du Virus de l'Hépatite Virale B ;
- Analyser les résultats de 2008 à 2009 puis ceux de 2010 ;
- Gérer les déchets biomédicaux au laboratoire.

## **2. GÉNÉRALITÉS :**

### **2.1. APERÇU SUR L'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 du personnel :**

- s'assurer que les mesures concernant la santé et la sécurité des personnels et la protection de l'environnement, notamment l'interdiction de fumer et

l'interdiction d'introduire, de conserver et de consommer des denrées alimentaires dans les locaux de prélèvements, de réception des prélèvements et d'analyses, sont appliquées conformément aux textes en vigueur et, le cas échéant, en coordination avec le médecin du travail et le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ;

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

#### **❖ Obligations du personnel de laboratoire**

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

#### **❖ Compte rendu d'analyse**

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

- valider les résultats des examens biologiques après s'être assuré que leur exécution est conforme aux recommandations du guide ;
- signer les comptes rendus d'analyses ;
- s'assurer que leur transmission se fait dans les délais compatibles avec leur bonne utilisation clinique et dans des conditions de confidentialité préservant le secret professionnel. [1]

#### **2.1.1.2. Locaux.**

##### **❖ Aménagement, accessibilité et entretien**

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

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

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

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

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

##### **❖ Sécurité**

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

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

Les risques chimiques, microbiologiques ou radioactifs sont confinés.

### **2.1.1.3. Équipements.**

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

Le biologiste doit 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 CO<sub>2</sub>
- 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  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  ou un congélateur à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 Procédures (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 déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste qualifié chargé de l'assurance de qualité.

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

#### **2.1.4. Documentation du laboratoire.**

##### **2.1.4.1. Rapports d'activités du service et publications.**

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

##### **2.1.4.2. Résultats nominatifs des analyses.**

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

##### **2.1.4.3. Registres de laboratoire.**

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

##### **2.1.4.4. Normes et procédures.**

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

#### **2.1.4.5. Résultats des contrôles de qualité et corrections.**

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

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

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

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

#### **2.1.4.7. Dossiers administratifs.**

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

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

## **2.2. INFECTION PAR LE VIRUS DE L'HEPATITE VIRALE B :**

### **2.2.1. Historique**

L'histoire des hépatites remonte à plus de 5 siècles avant J.C. Hippocrate, cinq siècles avant J.C. l'avait décrite en attribuant la responsabilité de ses manifestations cutanées et muqueuses au foie. Un siècle et demi après J.C, Galien distinguait les jaunisses liées à des obstructions biliaires et les jaunisses purement hépatiques. Le terme hépatite fut employé pour la première fois par Coelius Aurelianus, auteur médical romain du 5<sup>ème</sup> siècle après J.C.

Les premiers cas ont été rapportés en 1947 par Marc Callum et al pour distinguer l'hépatite épidémique à transmission essentiellement orale et l'hépatite parentérale. [4]

En 1963, l'antigène Australia aujourd'hui appelé antigène de surface de l'hépatite B fut découvert par Blumberg dans le sérum d'un aborigène australien hémophile transfusé. La particule virale B dite particule de Dane a été identifiée par Dane et al en 1970.

En 1972, Magnus et Mark ont décrit le système HBe lié à l'infectivité. Le vaccin est mis au point en 1974. [5]

### **2.2.2. Caractéristiques fondamentales**

#### **2.2.2.1. Classification**

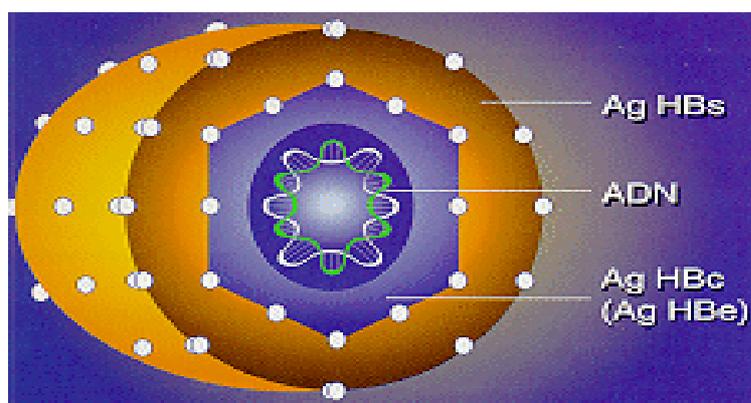
Le virus de l'hépatite B appartient à la famille des *Hepadnaviridae* et au genre *Hepadnavirus*. C'est un virus à ADN contrairement au virus de l'hépatite C qui est un *Flaviviridae*, virus à ARN. Il se rapproche des rétrovirus par son intégration dans le génome cellulaire et son mode de réplication qui utilise une transcriptase reverse. Le VHB est un virus enveloppé et résistant. [6.7.8]

#### **2.2.2.2. Caractères physico-chimiques**

L'étude structurale du VHB a montré trois sortes de particules qui sont :

- **Le virus entier** ou particule de Dane de 42-43nm de diamètre, sa concentration peut atteindre  $10^9$  unités/ml de sang. Il est constitué d'une enveloppe de 7nm de profondeur facilement dissociée par certains détergents, d'une capsidie cubique icosaédrique de 28nm de diamètre. Cette capsidie contient l'ADN circulaire partiellement bicatenaire. [7.8]
- **Une particule** de 22nm de diamètre représentant l'enveloppe virale lipoprotéique déversée en excès dans le sang sans capsidie ni génome. Ces particules peuvent atteindre  $10^9$  unités/ml de sang. [8]
- **Des formes tubulaires** de 20-22 nm de diamètre correspondent aussi à un excès d'enveloppes virales [5.8]

Le VHB est résistant au refroidissement jusqu'à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant plusieurs années, au chauffage jusqu'à  $56^{\circ}\text{C}$  durant 24h ; cependant, chauffé de 85 à  $100^{\circ}\text{C}$ , il perd ses propriétés antigéniques (ce qui ne correspond pas à la perte de la virulence) pendant plusieurs minutes. Le virus perd son activité sous l'action du phénol à 3-5% et de la chloramine 3%. Il résiste dans le milieu extérieur 7 jours environs et n'est pas inactivé par l'alcool ni l'éther. La particule de Dane est la seule infectieuse [6].



**Figure 1:** Structure du virus de l'hépatite B. Source : [9]

### **2.2.2.3. Organisation génomique**

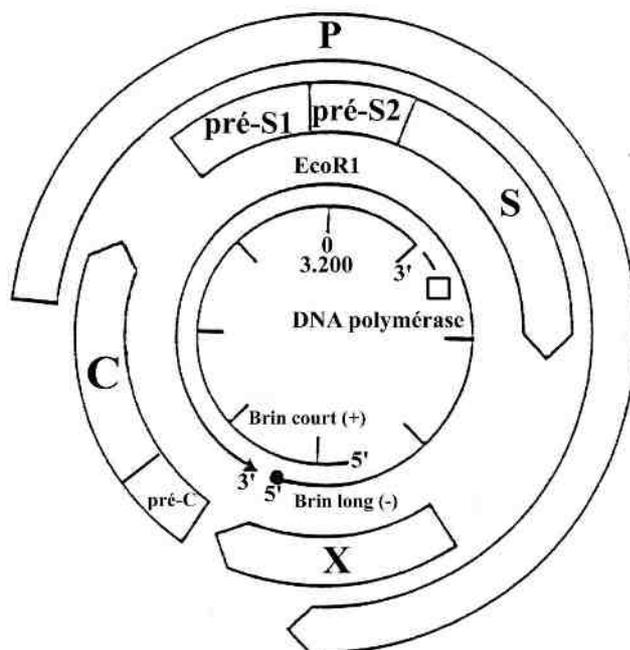
Le VHB possède l'un des plus petits génomes viraux. C'est le plus petit virus humain à ADN. [7]

C'est un virus à ADN circulaire partiellement bicaténaire ; cet ADN est constitué de 3200 nucléotides. Le brin long (brin L) ou encore brin négatif a une longueur fixe 3,2 kbases et forme un cercle partiellement discontinu (courte interruption). [10.11]

Le brin court ou brin positif (brin S) a une longueur variable se situant entre 50-100% du brin L. La structure circulaire du génome est assurée essentiellement par 220 nucléotides de l'extrémité 5' de chaque brin appelée région cohésive.

L'extrémité 5' du brin S comporte un oligo-ribonucléotide lié de façon covalente, 11 nucléotides de ce dernier sont complémentaires du brin L. Cette séquence de 11 nucléotides est directement répétée (DR) à l'autre extrémité de la région cohésive. Les deux copies DR1 et DR2 seraient impliquées dans l'initialisation de la réplication virale ainsi que dans le mécanisme d'intégration dans les hépatocytes. [5] L'ADN du VHB est constitué de quatre phases de lecture ouverte conservées et situées sur le brin L. Ces phases sont partiellement chevauchantes et correspondent à 4 gènes S, C, X, P codant chacun pour une protéine.

Le génome est schématisé sur la figure 2.



**Figure 2** : Structure génomique du virus de l'hépatite B [12].

### ❖ La region S

Divisée en région S, préS1 et préS2 ; cette région code pour l'enveloppe virale. Les gènes S, préS2 ont une longueur fixe. Celle du gène préS1 varie en fonction du sous-type.

Les gènes S, code pour la petite protéine de 24 kDa qui est constituée de 226 aa. La région correspondant aux acides aminés 124 à 147 est essentielle pour la synthèse d'anticorps anti-HBs. Cette protéine est dite majeure (représente 80% des protéines de surface). [5.8]

La région préS2 et S codent pour la protéine moyenne de 34kDa.

Cette protéine comprend en fait la protéine majeure et une terminale de 55 aa codée par la région préS2.

Les régions préS1, préS2 et S codent pour la grande protéine 39kDa.

La séquence protéique préS1, est essentielle pour la reconnaissance et la pénétration virale. Les trois protéines d'enveloppe existent sous forme glycosylée et non glycosylée. [5]

### **La région C**

L'extrémité 3' du gène C code pour une protéine de 22KDa (p22 c) qui est la protéine de core. Dans la portion terminale 5, il existe deux séquences AUG. La séquence nucléotidique allant du premier au second triplet AUG est appelée pré C. L'antigène HBe est codé à partir du premier triplet AUG. C'est une protéine non structurale de 17 KDa.

Les premiers nucléotides de la région pré C codent pour un peptide signal facilitant l'excrétion de l'antigène HBe dans le sérum [5.6]

### **La région P**

Cette région code pour une protéine de 82 KDa correspondant à l'ADN polymérase virale. Les produits du gène P ont une activité ADN polymérase. Cette activité sert à la synthèse d'un nouvel ADN à partir de l'ADN pré génomique.

Les produits du gène P sont impliqués non seulement dans le mécanisme de la transcription inverse, mais aussi dans le phénomène d'encapsidation de l'ARN pré génomique servant à la transcription. [5].

### **❖ La région X**

Cette région code pour un polypeptide de 145 à 154 aa dépendant du sous-type.

#### **3.1.2.4. Caractères antigéniques**

Les quatre gènes S, C, P, X du VHB codent tous pour des protéines dont les plus immunogènes sont l'antigène HBs et l'antigène HBc.

#### **❖ L'antigène HBs**

Il possède un déterminant spécifique de groupe « a » constant trouvé dans tous les virus, et divers déterminants de sous-types dont les importants sont : adw,

ayw, ayr. Des mutations ponctuelles au niveau de la protéine S peuvent entraîner le passage d'un sous-type à un autre, voir la perte de la réactivité avec l'anticorps anti-HBs. [5. 6.8].

❖ **L'antigène HBc (c=core)**

C'est l'antigène de capsid, il est constitué par la polymérisation d'une sous unité peptidique de 22KDa [10].

Cet antigène est très immunogène et les anticorps produits sont des marqueurs précoces et durables de l'infection [14.18]

L'AgHBc n'est retrouvé que dans le foie à l'intérieur des noyaux des hépatocytes infectés et dans leur cytoplasme à une concentration moindre. Sa forme soluble, l'AgHBe est retrouvé dans le sérum. L'AgHBe est un marqueur de la multiplication virale, il peut induire les anticorps anti-HBe. [5 .8]

❖ **La protéine X**

Elle est un antigène non structural et présent seulement dans les hépatocytes infectés.

Cette protéine possède des propriétés transactivatrices sur le génome viral ainsi que sur les gènes cellulaires.

**L'ADN polymérase**, associée à l'ADN virale est aussi antigénique. [5.6]

### **2.2. 3. Physiopathologie.**

#### **2.2.3.1. Cycle de multiplication du VHB dans l'hépatocyte**

Le cycle du VHB est très complexe. La particule de Dane pénètre dans la cellule hépatique sans la léser (décapsidation) et l'ADN viral s'intègre dans l'ADN cellulaire. Il en résulte de l'ARN viral à partir de cet ADN. Une partie de cet ARN viral servira d'ARN messager et sera traduite en protéine (ADN polymérase, AgHBs, AgHBc, protéine X), l'autre partie se comporte en ARN pré génomique qui sera transcrit en ADN par la polymérase qui est une reverse transcriptase. La capsid contenant l'ADN du virion complet (particule de Dane) sort de l'hépatocyte sans la léser. [8]

### **2.2.3.2. Lésions cellulaires.**

Ce sont des lésions caractéristiques marquées surtout au début par une inflammation lymphocytaire T au niveau de la zone periportable du foie.

Cette inflammation si elle est chronique, évolue vers une fibrose hépatique puis une cirrhose. [6.8].

Effet cytopathogène du VHB est peu important, les lésions sont la conséquence d'un ensemble de réactions immunologiques à médiation principalement cellulaire, dirigées contre les hépatocytes dont la membrane exprime les antigènes de capsid. Les mécanismes immunologiques sont différents selon la gravité de l'hépatite. Au cours de l'hépatite fulminante les lésions sont liées à des phénomènes humoraux, toxiques, et ischémiques. [5.6.8.]

Au stade d'hépatite aiguë elles sont dues à la sensibilisation des lymphocytes T cytotoxiques aux différents antigènes en particulier préS2 et AgHBc.

Pendant l'hépatite chronique active la réaction est dirigée principalement contre les hépatocytes où à lieu une réplication virale et exprimant sur leur membrane l'AgHBc et l'AgHBe [5].

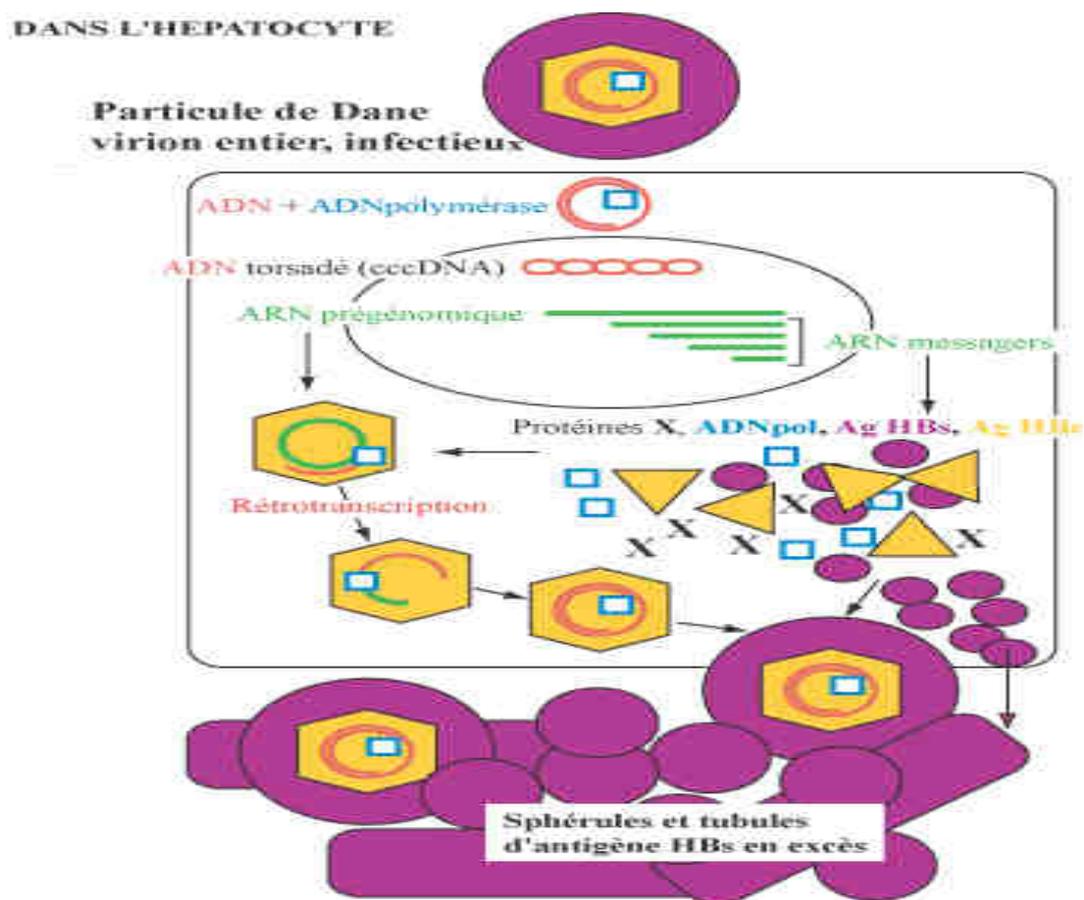


Figure 3 : Cycle de multiplication du VHB dans l'hépatocyte [13].

## 2.2.4. Epidémiologie

### 2.2.4.1. Tropisme du virus

L'homme est le réservoir du virus. Le virus est essentiellement présent dans le sang ( $10^9$  /ml de sang), mais il est détecté dans les sécrétions vaginales, le sperme, la salive, les liquides naso-pharyngés. Le virus est parfois présent dans les urines, le LCR, le liquide pleural [5.8.14]

### 2.2.4.2. Mode de transmission.

#### ❖ Voie parentérale

La transmission est essentiellement parentérale à cause de la virémie importante et prolongée [5.8. 14]. Elle se fait à travers le sang et ses produits dérivés lors des transfusions sanguines. Le risque d'hépatite post-transfusionnelle était proportionnel au nombre d'unités de sang transfusées. Actuellement le dépistage du portage du VHB dans les centres de transfusion et l'utilisation de matériel à usage unique ont permis de diminuer ce risque [5] D'autres modes de contamination parentérale existent comme la contamination accidentelle du personnel de la santé, les tatouages... [15].

❖ **La transmission sexuelle.**

L'hépatite B est une infection sexuellement transmissible [5.8.14].

La transmission se fait par le sperme et les sécrétions vaginales. Il existe des comportements sexuels à risque tels que les rapports non protégés, la multiplicité des partenaires. Sacko rapporte que chez les professionnels du sexe et les homosexuels ; le risque de portage de l'AgHBs augmente avec le nombre de partenaires

❖ **Transmission mère-enfant**

Elle peut être secondaire soit à une hépatite aiguë chez la mère dans le dernier trimestre de la grossesse ou dans la période néonatale, soit à une hépatite chronique [11,14].

Trepo et al ont établi que cette transmission est surtout périnatale par le contact avec le sang et les sécrétions lors du passage par la filière vaginale au cours de l'accouchement. Le risque de contamination du nouveau-né est de 90% lorsque la mère a l'AgHBe et 25% lorsqu'elle n'a pas d'AgHBe. [5,14].

L'infection du nouveau-né expose à un risque élevé de chronicité (près de 100% d'infection chronique). [18]

### **2.2.4.3. Répartition géographique.**

Le VHB est ubiquitaire. [6,14]

. Dans le monde 2 milliards d'individus ont été en contact avec le virus et 400 millions en sont porteurs chroniques [19].

La prévalence varie selon les régions, on peut observer trois zones d'endémicité [14].

**Une zone de basse endémicité** : elle est constituée par l'Europe de l'Ouest, l'Amérique du Nord, l'Australie. La prévalence de l'infection chronique (AgHBs positif) est de 0,5 à 5% et 3 à 5% des sujets sont porteurs de l'AgHBs. [5,14]

**Une zone de moyenne endémicité** : Ayant 2 à 7% de porteurs chroniques de l'AgHBs, 20 à 50% des sujets ont des anticorps anti-HBs. Elle est représentée par le bassin méditerranéen, le moyen orient, l'Amérique du Sud, l'Europe de l'Est et l'ex-URSS.

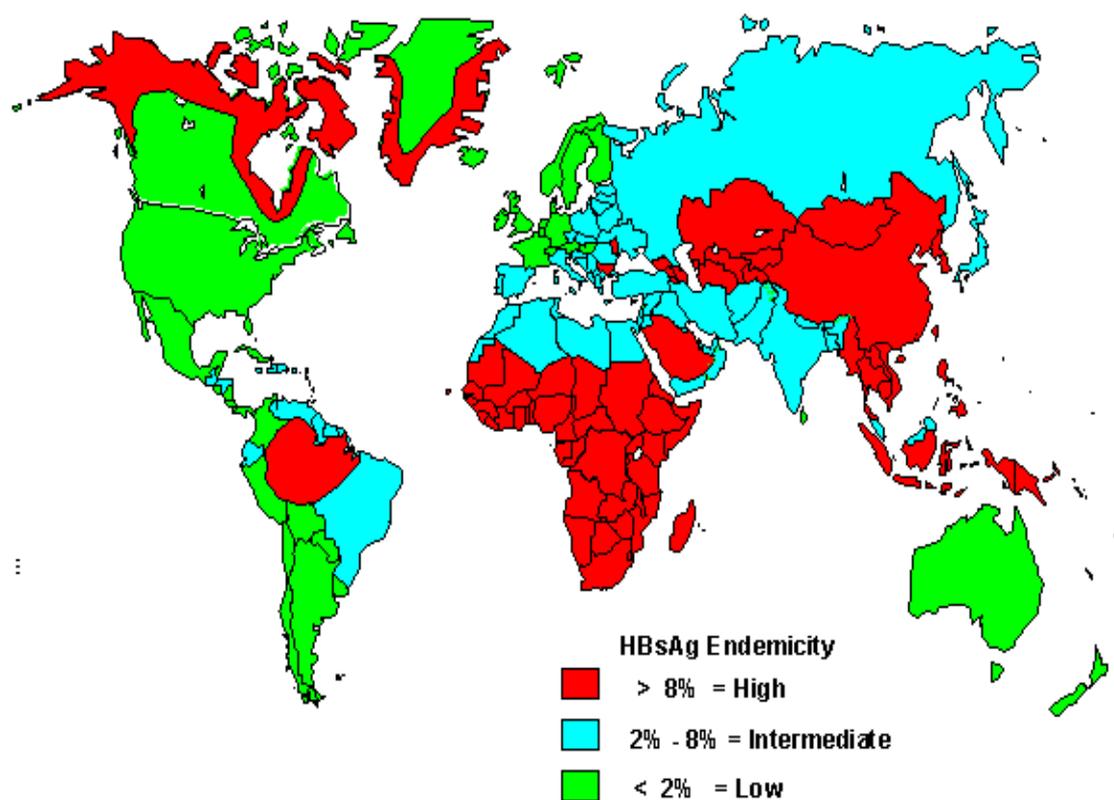
**Une zone Hyper-endémique** : Constituée par la chine, l'Asie du sud-est, l'Afrique subsaharienne. La prévalence de l'infection est de 8 à 15%, 70 à 95% des sujets ont des anticorps anti-HBs. Dans cette zone la contamination a lieu essentiellement à la naissance ou pendant l'enfance. Ce qui explique cette haute prévalence [5]. Une étude réalisée au Mali en 1980 a donné les résultats ci-après : 16,5% d'AgHBs, 34,15% d'anti-HBc, 46,6% d'anti-HBs. A partir de ces résultats, 90% de la population étaient au moins porteurs d'un marqueur [21].

En 1997, la prévalence de l' AgHBs était de 14% dans la population des femmes enceintes et le risque de transmission mère-enfant était de 37,5% [16].

En 2002 Tembely [25], en 2003 Guindo [22], et en 2004 Tangara [26] avaient eu des fréquences de 15,25%, de 14,9% et 15,72% chez les donneurs de sang au centre national de transfusion sanguine de Bamako. Toutes ces études ont montré que le Mali est un pays à forte endémicité.

**Tableau I :** Niveau de prévalence du portage chronique selon les zones géographiques du monde [4,20].

<b>Classification</b>	<b>Portage chronique</b>	<b>Zone géographique</b>
<b>Forte prevalence</b>	5 à 10%	Afrique, Asie du Sud-Est
<b>Prévalence intermédiaire</b>	2 à 5%	Italie, Afrique du Nord, Espagne, Grèce, Japon
<b>Faible prevalence</b>	0,30%	Europe du Nord, USA



**Figure 4** : Distribution mondiale de la prévalence du VHB [20]

#### 2.2.4.5. Groupes à risques

Ces groupes sont liés aux différents modes de contamination du VHB.

Les polytransfusés, les hémophiles, les hémodialysés, et les toxicomanes intraveineux présentent un haut risque.

Selon Trepo et al, plus de 80% des toxicomanes intraveineux ont au moins un marqueur du VHB [17]

. On peut aussi parmi les groupes à risque citer, l'enfant né de mère AgHBs positif et le personnel de santé chez lequel l'hépatite B est considérée comme une maladie potentiellement professionnelle.

L'entourage familial d'un porteur chronique, les sujets à partenaires sexuels multiples et les homosexuels présentent aussi le risque important [14.21]

## **2.2.5. Marqueurs biologiques de l'hépatite B.**

### **2.2.5.1. Marqueurs non spécifiques**

- **Transaminases** : l'élévation des transaminases (ALAT : Alanine Amino Transférase et ASAT : Aspartate Amino Transférase) permet de mettre en évidence une cytolyse hépatite. Leur valeur est entre 10 et 100 fois supérieures à la normale dans les hépatites aiguës. Au cours de l'hépatite chronique l'élévation est modérée (1 à 5 fois à la normale). L'ALAT est presque toujours supérieure à l'ASAT en l'absence de cirrhose, l'inverse se produit si c'est la cirrhose [5, 6].

- **Taux de prothrombine (TP)**: ce taux est abaissé lors de l'hépatite sévère, (TP < 50%). Un taux < 30% définit l'hépatite fulminante.

La VS est élevée et le taux de lymphocytes est abaissé en cas d'hépatite sévère.

### **2.2.5.2. Marqueurs spécifiques**

#### **❖ Les Antigènes**

- **Antigène HBs** : La présence de l'AgHBs dans le sang signale l'infection par le VHB. Il est détectable dans le sérum des sujets infectés entre 2 et 6 semaines après contamination.

La persistance au-delà de six mois de l'AgHBs témoigne une infection chronique [6.7.14].

Sa négativation dans le sérum permet de prédire une évolution favorable à la guérison [5.6]

-**Antigène HBc** : Il est le témoin de la réplication virale dans le tissu hépatique d'un sujet atteint du VHB.

-**Antigène HBe** : détectable dans le sérum, sa présence témoigne une phase de réplication virale intense et d'une contagiosité importante. [8.14].

La persistance de cet antigène plus d'un mois est un indice précoce de passage à la chronicité [16].

**-ADN et ADN polymérase** : sont aussi des marqueurs de la réplication virale.

❖ **Les Anticorps :**

- **Anticorps anti-HBs** : Au cours d'une hépatite aiguë l'anti-HBs devient détectable lorsque l'AgHBs disparaît. Il confère une immunité protectrice vis-à-vis d'une réinfection par le VHB. Son apparition signe l'arrêt de la réplication virale et témoigne une infection ancienne en absence de vaccination [5].

**Anticorps Anti-HBc** : Ce sont des marqueurs très précoces de l'infection. Associés à l'AgHBs, ils traduisent une infection en cours [27].

Ils sont de deux types : IgM Anti-HBc et IgG Anti-HBc, ce qui permet de dater l'infection.

L'IgM Anti-HBc détectable pendant la phase préictérique est le témoin d'une infection récente [6.8.14]

Les IgG Anti-HBc témoignent une infection ancienne, ils persistent pendant des années voire toute la vie.

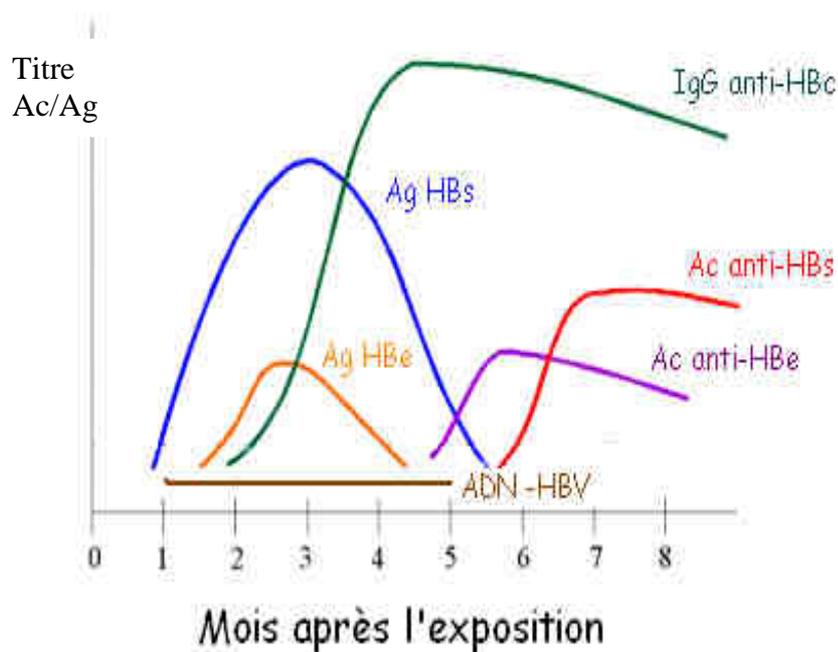
Les IgG Anti-HBc représentent les meilleurs marqueurs sur le plan épidémiologique.

**-Anticorps Anti-HBe** : Il apparaît dans le sérum quand l'AgHBe n'est plus détectable.

Sa présence dans le sérum témoigne l'absence de réplication virale. Cependant certains sujets anti-HBe positifs peuvent avoir une infection virale active surtout si l'AgHBs ou ADN virale existe dans l'hépatocyte [5.27]

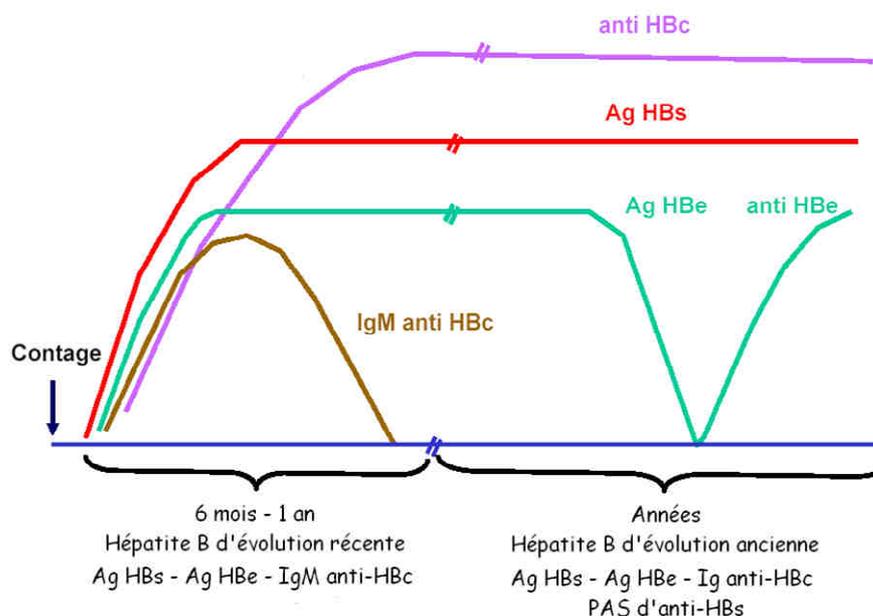
**Tableau II: Illustration des différents cas possibles d'évolution de l'Hépatite virale B : les marqueurs associés aux différents types de patients [6]**

	ENZYME	ANTIGÈNES		ANTICORPS			DNA
	ALAT	Ag HBs	Ag HBe	Ac anti Ag HBs	Ac anti Ag HBc	Ac anti Ag HBe	DNA du virus
hépatite aiguë début	+	+	+	-	-	-	+
hépatite aiguë phase d'état	+++	(+)	(+)	-	+ (IgM)	-	(+)
hépatite aiguë phase postictérique	(+)	V	-	V	+ (IgM)	+	V
Guérison	0	-	-	+	+ (IgM)	+	-
hépatite chronique avec virus circulant	+	+	(+)	-	+	(-)	+
hépatite chronique sans virus circulant	(+++)	+	(-)	-	+	(+)	-
porteur asymptomatique avec virus circulant	0	+	+	-	+	-	+
porteur asymptomatique sans virus circulant	0	+	-	-	+	+	-
sujet vacciné	0	-	-	+	-	-	-



**Figure 5 : Evolution des Antigènes et Anticorps en fonction du temps le cas d'un malade « normale » [8].**

**Evolution des marqueurs viraux de l'Infection au virus de l'hépatite virale B.**



## 2.2.6. Les moyens de diagnostic sérologique des infections par le Virus de l'Hépatite Virale B

### 2.2.6.1. Tests de dépistage sérologique de l'Ag HBs

Le diagnostic virologique de l'infection à VHB est avant tout un diagnostic sérologique basé sur la recherche d'antigènes par méthode immunoenzymatique (ELISA) ou autre méthode immunologique de sensibilité équivalent. Le diagnostic de l'infection repose chez l'adulte sur la détection des Ag HBs.

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 des infections à VHB.

Il existe désormais de très nombreux tests disponibles pour la détection de l'infection. Ils reposent sur des Ag HBs concepts différents (tests indirects, tests sandwich, tests compétition,...), des supports différents (microplaques, microparticules, immunofiltres,...), une technologie différente (technologie microplaque classique, automates, tests unitaires,...). A côté des tests ELISA,

des tests d'agglutination (particules de gélatine sensibilisées) sont également disponible.

Le dépistage de l'Ag HBs 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.

La recherche de l'AgHBs faite par VIDAS<sup>®</sup> PC (**bioMérieux<sup>®</sup> France**)

Vidas<sup>®</sup> HBs Ag Ultra (HBs) est un test qualitatif et quantitatif, automatisé sur les instruments VIDAS, permettant la détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) dans le sérum ou le plasma humain par la méthode ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

La sensibilité analytique de VIDAS PC est inférieure 0,15ng/ml d'AgHBs et sa spécificité est 100%.

➤ **Principe du test :**

Le test Vidas HBs Ag Ultra utilise la technique ELFA automatisable sur le système Vidas. Ce dosage peut être effectué selon 2 protocoles : protocole long HBL (90 minutes), protocole court HBS (60 minutes).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et le système de pipetage. Les réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration / refoulement du milieu réactionnel. Après une étape préliminaire de lavage, les antigènes de l'échantillon se lient simultanément aux anticorps monoclonaux fixés sur le cône et à l'anticorps conjugué de la biotine.

Les composants non liés de l'échantillon sont éliminés par lavages l'antigène capturé par la phase solide et complexé à l'anticorps biotinylé est mis en contact avec la streptavidine conjuguée à la phosphatase alcaline qui se lie à la biotine.

Une nouvelle étape lavage élimine les composants non fixés.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Methyl umbelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Methyl umbelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon.

A la fin du test, les résultats sont analysés automatiquement par l'instrument et exprimés en indice par rapport à un standard.

➤ **Composition du test :**

Le coffret du VIDAS® HBs Ag Ultra est composé de 60 tests

- 60 cartouches
- 60 cônes HBs
- Un standard HBs 3 ml (lyophilisé) S1
- Un contrôle positif HBs 1,5 ml (liquide) C1
- Un contrôle négatif HBs 1,5 ml (liquide) C2
- Une carte MLE fiche de spécifications contenant les données usine nécessaires à la calibration du test.

➤ **Mode opératoire :**

• **Saisie des données de la carte MLE :**

A l'ouverture du nouveau lot, les spécifications (ou données usine) ont été entrées dans l'instrument (vidas ou mini vidas) à l'aide de la carte MLE (fiche de spécifications) incluse dans chaque coffret. Si cette opération n'était pas effectuée avant de commencer les tests, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot. Il

est possible de saisir les spécifications manuellement ou de façon automatique grâce à la carte MLE.

- **Calibration :**

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1, sera analysé en double. La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV (Relative Fluorescence Value) fixée. Si ce n'est pas le cas: refaire une calibration.

- **Réalisation du test :**

Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les classer 30 minutes à température ambiante avant utilisation.

Utiliser une cartouche «HBS» et un cône «HBS» pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester. Vérifier que le sachet de cônes a bien été refermé après chaque utilisation.

Taper ou sélectionner «HBS» sur l'instrument pour le protocole court et taper ou sélectionner «HBL» pour le protocole long. Le standard identifié obligatoirement par «S1», doit être utilisé en double. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par C1. Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par C2.

Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et les échantillons.

Distribuer 150 µl de standard, d'échantillon, ou de contrôle dans le puits échantillon des cartouches. Placer dans l'instrument des cônes et les cartouches. Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et cartouche.

Démarrer l'analyse. Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'appareil. Les résultats sont obtenus en 60 ou 90 minutes environ selon le protocole sélectionné.

A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches utilisés dans un container approprié.

**\* les tests rapides disponibles au laboratoire :**

Exemples :

Les tests rapides non discriminants avec une sensibilité élevée

- Détermine Ag HBs, -"DIAQUICK" Ag HBs Cassette, - HEPA-SCAN, VIKIA HBsAg.

Le test rapide discriminant avec une spécificité élevée

- ImmunoComb II Ag HBs

**\* Évolution des tests rapides**

**Détermine Ag HBs**

Actuellement c'est un test immunologique qualitatif rapide in vitro pour la détection des antigènes HBs.

**ImmunoComb II Ag HBs :**

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

### **3. MATERIELS ET METHODES :**

#### **3.1. Cadre d'étude**

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

##### **3.1.1. Historique**

Le CHU Gabriel TOURE est situé à Bamako capital 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 TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune Soudanais stagiaire en médecine de la faculté de Dakar (SENEGAL). 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 TOURE 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 Internet.

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

- \* section de biochimie équipée de 2 Spectrophotomètres,
- \* section d'immuno- hématologie équipée de 01 Counter ABX micros 60, 01 minicentrifugeuse et de 01 Cell-dyn 1700, et d'un Cell-dyn Emerald
- \* 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.

### **3.2. Population d'étude**

Notre échantillonnage a été constitué à partir des prélèvements des patients référés au laboratoire pour un dépistage du Virus de l'Hépatite Virale B, 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 prénoms.

### **3.3. Type d'étude**

Il s'agissait donc d'une étude rétrospective (2008 à 2009) et transversale prospective de Janvier -Aout 2010 pour le diagnostic sérologique de l'infection au Virus de l'Hépatite Virale B chez les personnes malades hospitalisées et les volontaires référées au laboratoire du CHU Gabriel TOURE.

### **3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion**

#### **3.4.1. Critères d'inclusion**

Sont inclus dans notre étude les prélèvements des patients reçus au laboratoire pour un dépistage du Virus de l'Hépatite Virale B en interne (hospitalisés) ou en externe et tout volontaire du CHU Gabriel TOURE.

#### **3.4.2. Critères de non inclusion**

N'était pas inclus dans notre étude tous prélèvements de patients non conformes.

### **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. Consentement éclairé**

Un consentement éclairé a été obtenu après explication aux patients des bénéfices et des contraintes liés au dépistage, dans sa langue usuelle.

#### **3.5.3. 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 le risque d'infection du point de ponction.

#### **3.5.4. 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. Echantillonnage**

### **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 VHB dans le cadre d'un bilan systématique ou pour une confirmation de diagnostic de l'infection au VHB ou pour un dépistage volontaire pendant la période d'étude.

### **3.6.2. Taille de l'échantillon**

Durant la période d'étude allant du 03 Mars 2008 au 06 Novembre 2009 et du 11 Janvier au 30 Aout avec la mise en place de l'assurance qualité entre les 2 périodes, l'effectif des prélèvements dépistés au laboratoire a été de 1410 prélèvements qui ont constitué notre échantillon.

### **3.6.3. Variables étudiées**

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés ont été les suivants : Sexe, âge, statut sérologique, profession, services.

### **3.6.4. Collecte des données**

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

### **3.6.5. Saisie et analyse des données**

Les données ont été saisies, traitées et analysées sur SPSS puis 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 avoir retiré les 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 l'alcool à 70°,
- utilisation de 2 sortes de poubelles :
  - \* une pour cartons d'emballage, papiers...
  - \* une pour déchets contaminés pour incinération,
- Décontamination 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),
- En cas d'exposition au 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,
- En cas de projection de liquides 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'est pas périmé,
- \* ne jamais mélanger les réactifs de lots différents.

- Pendant l'utilisation du kit :

- \* respecter les dilutions et les 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. Méthode de laboratoire**

#### **Procédure de tests de diagnostic biologique rapides (TDR) du VHB**

##### **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, 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.

### **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. Annexe 1).

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

- Il pratique 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. annexe 1).
- 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.

### **3.9.2. Sérodiagnostic de HVB par le Détermine Ag HBs.**

#### **Dénomination et domaine d'application)**

Abbott Détermine™AgHBs est un test immunologique qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection des AgHBs dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Ce test constitue une aide pour la détection des AgHBs chez les sujets infectés.

#### **Principe du test :**

Détermine Ag HBs est un test immuno chromatographique pour la détection qualitative des Ag HBs.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. Comme 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 Ag HBs 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 Ag HBs sont absents, le conjugué antigène colloïde de sélénium traverse la fenêtre/patient sans former de ligne rouge.

Une barre de contrôle de procédure est incluse dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

### **3.9.3. Sérodiagnostic du Virus de l'Hépatite Virale B par l'Immunocomb II**

La trousse IMMUNOCOMB AgHBs 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 deux points ou Spots de réaction :

Spot supérieur –sérum albumine bovine biotinylée (Contrôle interne).

Spot inférieur – anticorps monoclonaux anti-HBs.

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. L'AgHBs éventuellement présent dans les échantillons testés est capturé par les anticorps anti HBs au niveau des spots inférieurs des dents du peigne. 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 l'AgHBs capturé sur les dents est reconnu par un anticorps anti-HBs biotinylé. Dans le

compartiment D, les complexes biotinylés antigène /anticorps au niveau des spots inférieurs et le sérum albumine bovine biotinylé des spots supérieurs de contrôle, réagissent avec un conjugué streptavidine /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

**Compartiment C :** anticorps de chèvre anti-HBs biotinylés.

**Compartiment D :** conjugué streptavidine- phosphatase alcaline

**Compartiment E :** solution de lavage

**Compartiment F :** substrat chromo-génique contenant du  
5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) et  
nitro-bleu-tétrazolium (NBT)



**Figure N°6** : Bac de développement recouvert d'un film d'aluminium et contenant tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test.

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



**Figure N°7** : Peignes.

Source : Photographie. BAMS

**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 avec précaution.
- 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.

### **3.10. CHRONOGRAMME DES ACTIVITES**

Nous avons suivi le chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse. (Voir annexe 8).

### **3.11. DEFINITION OPERATIONNELLES DES TERMES : (voir annexe 1)**

## 4- RÉSULTATS.

### 4.1. Résultat d'évaluation du laboratoire

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

<b>Bâtiments, fluides et généralités</b>	<b>93%</b>
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°IV : Évaluation de la biosécurité et de l'hygiène du laboratoire**

<b>Biosécurité et hygiène</b>	<b>90%</b>
Utilisation de moyens de protections.....	60%
Procédures en biosécurité.....	100%
Formations en biosécurité.....	100%
Conditions de biosécurité.....	100%
Sécurité des équipements.....	67%
Élimination 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 N°V : Évaluation des prélèvements et de l'hygiène**

<b>Prélèvements et hygiène</b>	<b>95%</b>
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°VI : Quantité minimum des équipements présents dans le laboratoire de sérologie (GBEA MALI)**

<b>Désignation</b>	<b>Quantité disponible</b>
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
<b>Moyenne</b>	<b>73%</b>

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

**TABLEAU N°VII : Évaluation des réactifs et approvisionnement**

<b>Réactifs et approvisionnement</b>	<b>62%</b>
Préparation de réactifs faits maison.....	<b>0%</b>
Qualité de la gestion des réactifs.....	<b>80%</b>
Disponibilité de fonds pour les réactifs.....	<b>40%</b>
Utilisation de réactifs périmés.....	<b>100%</b>
Disponibilité de réactifs pour autres sérologies .....	<b>90%</b>

L'évaluation des réactifs et l'approvisionnement du laboratoire sont assurés à hauteur de 62% dans l'ensemble. La disponibilité de fonds pour l'achat des réactifs sont assurés à 40%.

**TABLEAU N° VIII : Évaluation de la qualité totale**

<b>Qualité totale</b>	<b>82%</b>
Disponibilité de procédures d'analyse.....	<b>100%</b>
Présence de contrôle de qualité interne.....	<b>100%</b>
Présence de relevés de températures.....	<b>100%</b>
Qualité de la maintenance préventive.....	<b>60%</b>
Réparation et réglage des instruments.....	<b>33%</b>
Disponibilité de documentation et de pièces détachées	<b>100%</b>

L'évaluation de la qualité totale est de 82% 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°IX : Évaluation des rapports d'activité, analyse et communication du VHB**

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

L'évaluation des rapports, analyse et communication sont assurés à 96%. La qualité de la collaboration laboratoire/laboratoire est assurée à 75%.

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

<b>PARAMETRES</b>	<b>TAUX</b>	<b>APPRECIATIONS</b>
Bâtiment, fluides et généralités	93%	Bon
Biosécurité et hygiène	90%	Bon
Prélèvement et hygiène	95%	Bon
Équipements	73%	Assez bon
Réactifs et approvisionnement	62%	Assez bon
Qualité totale	82%	Bon
Rapports analyses et communications	96%	Bon
<b>MOYENNE GÉNÉRALE</b>	<b>84%</b>	<b>Bon</b>

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 84% dans le diagnostic du VHB.

**Source :** logi-Evaluat-labo.xls

#### 4.2. Nombre de dépistages effectués au laboratoire.

Notre étude a porté sur les résultats de la sérologie de 1410 patients dont 907 échantillons de sérums analysés de 2008 à 2009 et 503 échantillons de Février à Septembre 2010 avec la mise en place de l'assurance qualité entre les 2 périodes. Les variables étudiées étaient : l'âge, le sexe et les résultats de l'AgHBs.

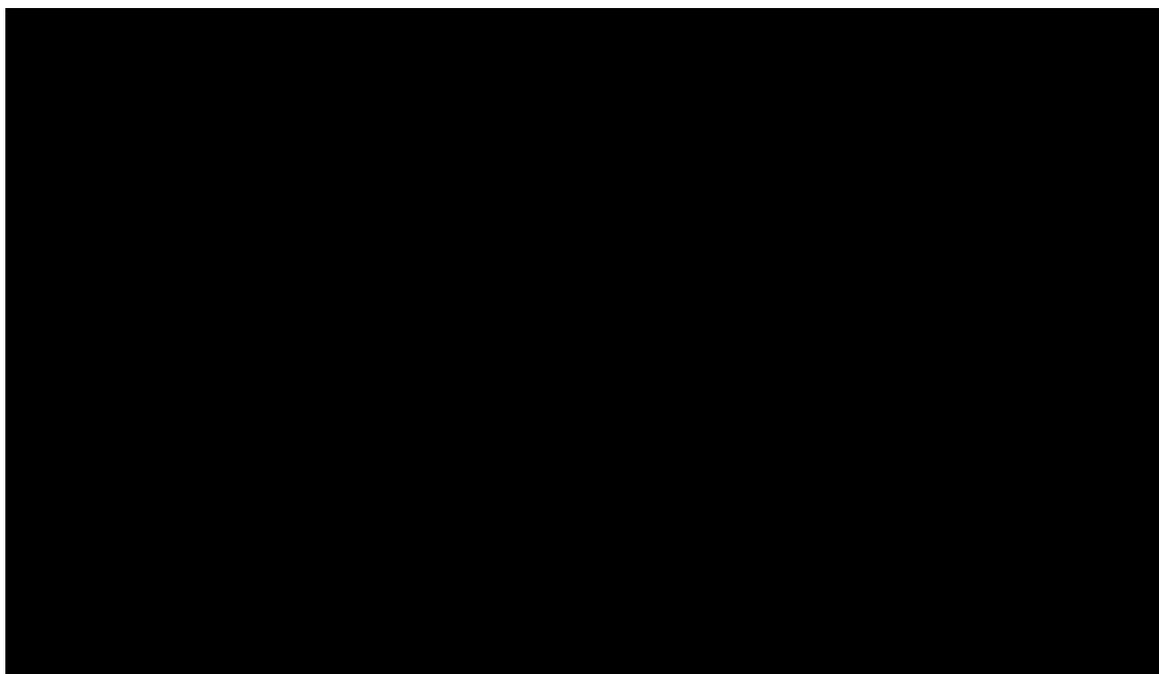
Les résultats obtenus de l'étude des échantillons de sérums analysés de 2008 à 2009 sont consignés dans les tableaux et figures suivants :

**TABLEAU N° XI : Répartition des patients selon le sexe de 2008-2009 :**

SEXE DU PATIENT	EFFECTIFS	FREQUENCES(%)
FEMININ	381	42,0
MASCULIN	499	55,0
INCONNU	27	3
<b>Total</b>	<b>907</b>	<b>100,0</b>

Le sexe ratio était en faveur du sexe masculin soit 1.31.

Il y avait 499 patients de sexe masculin contre 381 patients de sexe féminin et 27 patients de sexe inconnu.



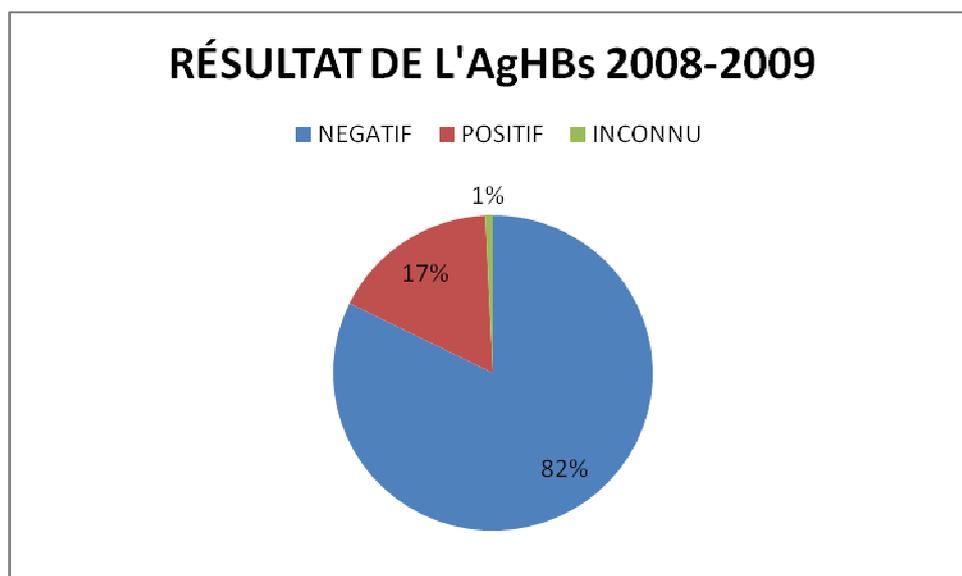
**Figure N°9** : Répartition des patients selon le sexe de 2008 à 2009.

Il y avait 55% de sexe masculin contre 42% patients de sexe féminin et 3% de sexe inconnu.

**TABLEAU N°XII** : Répartition des patients selon le statut sérologique de 2008-2009

<b>AgHBs</b>	<b>EFFECTIFS</b>	<b>FREQUENCES(%)</b>
<b>INCONNU</b>	<b>7</b>	<b>0,8</b>
<b>NEGATIF</b>	746	82,2
<b>POSITIF</b>	<b>154</b>	<b>17,0</b>
<b>Total</b>	<b>907</b>	<b>100,0</b>

La sérologie AgHBs a été positive chez 154 personnes soit 17%. On a eu 7 cas de résultats non enregistrés soit 1%.

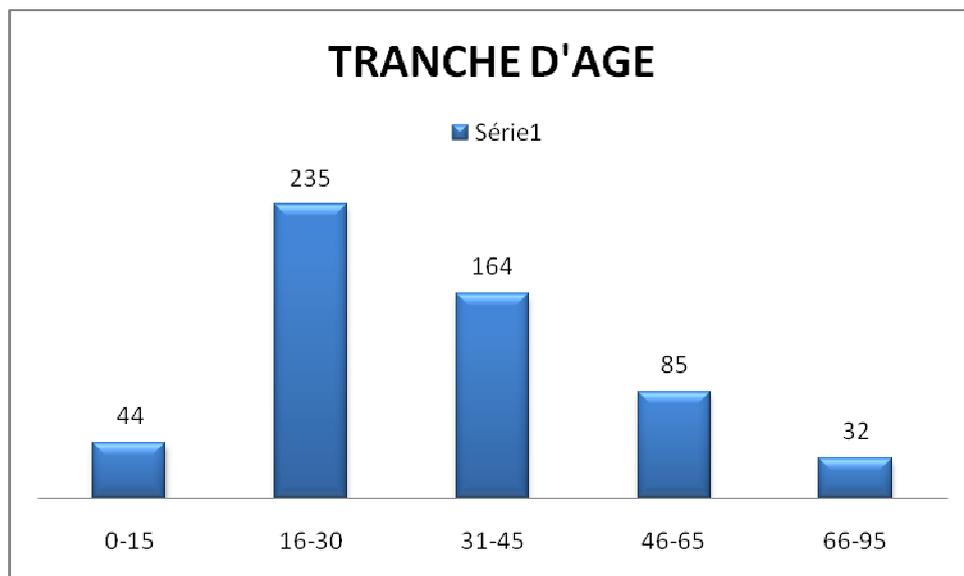


**Figure N°10 :** Répartition des patients selon le statut sérologique 2008-2009.

**TABLEAU N°XIII:** Répartition des patients selon la tranche d'âge 2008-2009.

Tranche d'âge des patients	EFFECTIFS	FREQUENCES (%)
0-15	44	4,8
16-30	235	25,9
31-45	164	18,2
46-65	85	9,4
66-95	32	3,5
Inconnu	347	38,2
<b>Total</b>	907	100,0

La tranche d'âge 16-30 était la plus représentée avec 42% par contre la tranche d'âge 66-95 était la moins représentée avec 5.7%. On avait 347 cas d'âge inconnu.



**FIGURE 11 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge 2008-2009.

Après la mise en place de l'assurance qualité :

- Rédaction des MON (Modes Opératoires Normalisés) voir Annexe.
- Réception et enregistrement corrects des échantillons.

Les résultats obtenus de l'étude des échantillons de sérums des patients analysés en 2010 sont consignés dans les tableaux et figures suivants :

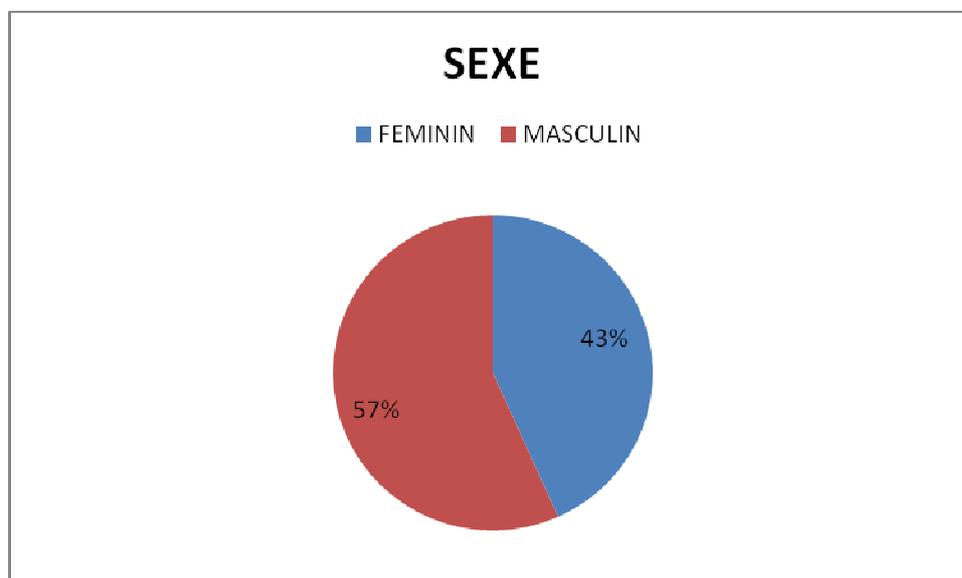
**TABLEAU N°XIV :** Répartition des patients selon le sexe 2010.

SEXE	EFFECTIFS	FREQUENCES (%)
MASCULIN	266	52,9
FEMININ	237	47,1
<b>Total</b>	503	100,0

Le sexe ratio a été toujours en faveur du sexe masculin soit 1.12.

Il y avait 266 patients de sexe masculin contre 237 patients de sexe féminin.

Nous avons constaté une grande amélioration au niveau de l'enregistrement du sexe des patients.



**Figure N°12 :** Répartition des patients selon le sexe 2010.

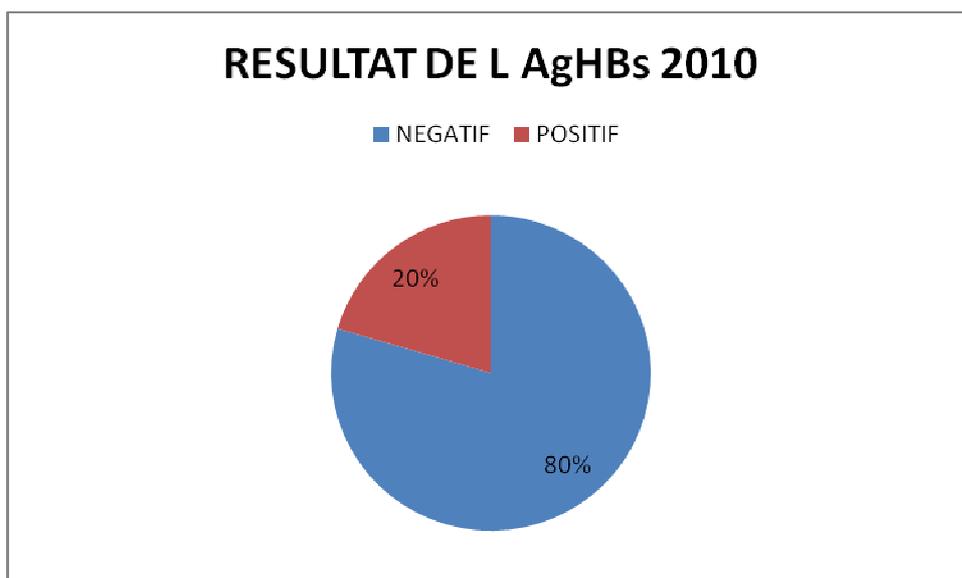
Il y avait 57% de sexe masculin contre 43% patients de sexe féminin.

**TABLEAU N°XV :** Répartition des patients selon le statut sérologique en 2010.

AgHBs	EFFECTIFS	FREQUENCES(%)
NEGATIF	400	79 ,5
POSITIF	103	20,5
<b>Total</b>	<b>503</b>	<b>100,0</b>

La sérologie AgHBs a été positive chez 103 personnes soit 20%.

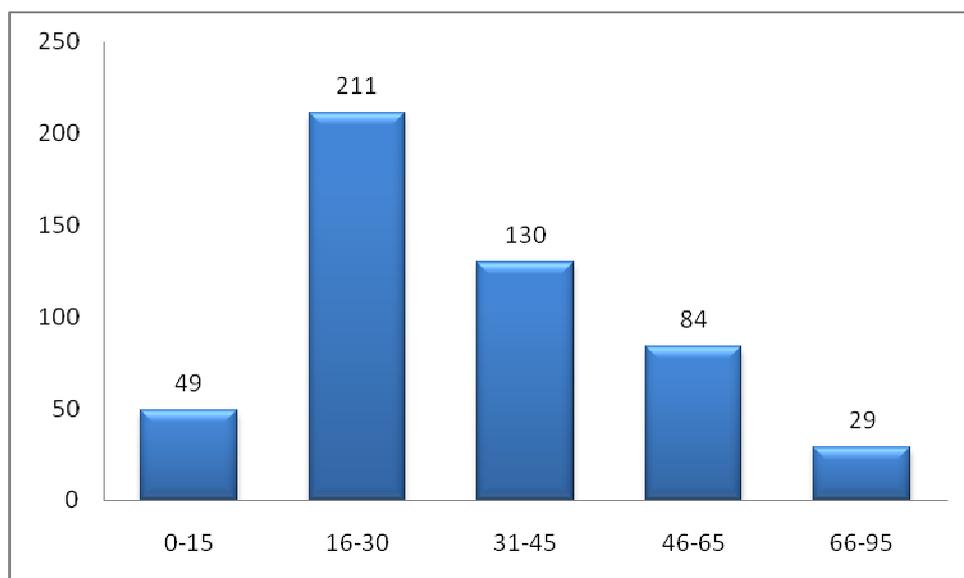
Une amélioration a été constatée au niveau de l'enregistrement des résultats.



**FIGURE N°13:** Répartition des patients selon le statut sérologique en 2010.

**TABLEAU N°XVI:** Répartition des patients selon la tranche d'âge des patientes en 2010.

Tranche d'âge du patient	EFFECTIFS	FREQUENCES
0-15	49	9,8
16-30	211	41,9
31-45	130	25,8
46-65	84	16,7
66-95	29	5,8
<b>Total</b>	<b>503</b>	<b>100,0</b>



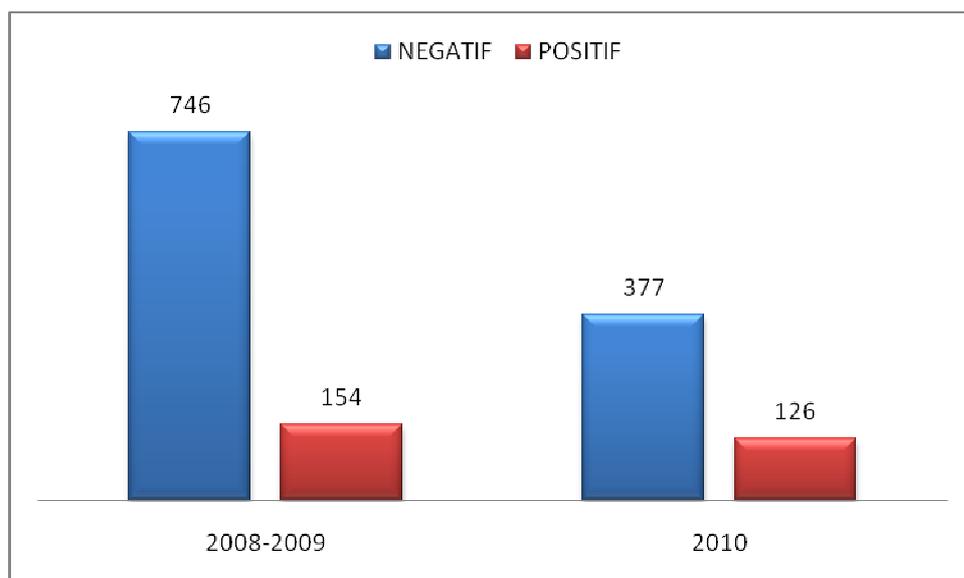
La tranche d'âge 16-30 était la plus représentée avec 211 cas et celle de 66-95 la moins représentée avec 29 cas.

**FIGURE N°14 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge des patients en 2010.

**TABLEAU N°XVII :** Fréquence de la réalisation de l'AgHBs selon l'année.

ANNEE DE L'ANALYSE	DE L'EFFECTIFS	FREQUENCE (%)
<b>2008</b>	210	14,9
<b>2009</b>	<b>697</b>	<b>49,4</b>
<b>2010</b>	503	35,7
<b>Total</b>	<b>1410</b>	<b>100,0</b>

L'année 2010 a eu le plus d'effectifs avec 697 patients cela s'explique par la disponibilité des réactifs sur une longue période de l'année.

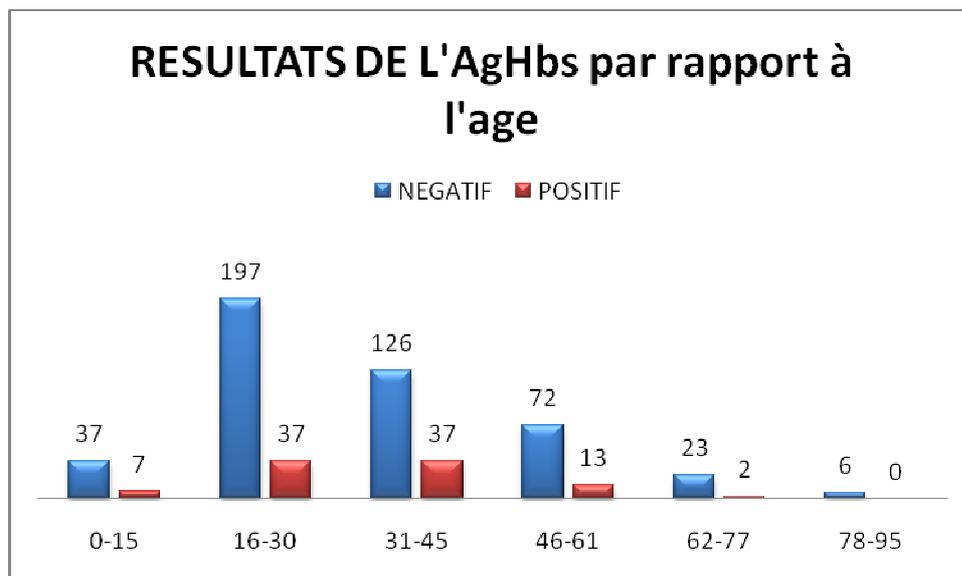


**FIGURE N°15 :** Nombre de tests sérologiques réalisés de 2008-2009 et en 2010 et leurs résultats.

En 2010 le nombre de patients positifs a augmenté sur une période moins longue due au dépistage volontaire suite à la grande campagne de sensibilisation menée.

**TABLEAU N°XVIII :** Répartition des patients selon la tranche d'âge des patients et le statut sérologique.

TRANCHE D'AGE DES PATIENT	RESULTAT DE L'AgHBs	
	NEGATIF	POSITIF
0-15	37	7
16-30	197	37
31-45	126	37
46-61	72	13
62-77	23	2
78-95	6	0
<b>TOTAL</b>	<b>461</b>	<b>96</b>



**FIGURE N°16 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge des patients et le statut sérologique.

Les tranches d'âge les plus représentées étaient 16-31 et 31-45 ans.

**Tableau N°XIX :** Répartition des patients selon le sexe du patient et le résultat de l'AgHBs.

SEXE DU PATENT	RESULTAT DE L AGHBS	
	NEGATIF	POSITIF
FEMININ	331	49
MASCULIN	395	101
INCONNU	20	4
<b>TOTAL</b>	<b>746</b>	<b>154</b>



**FIGURE N°17:** Sexe du patient et résultat de l'AgHBs

Le sexe masculin a été le plus représenté avec 395 cas d'échantillons négatif et 101 cas d'échantillon positifs.

## **LES DIFFICULTES RENCONTREES**

### **• Difficultés liées au prélèvement**

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

- 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

## **5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.**

La présente étude qui a porté sur la contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic du Virus de l'Hépatite Virale B au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ a concerné 1410 échantillons dont 907 prélèvements reçus de janvier 2008 à décembre 2009 et 503 prélèvements de février à août 2010. L'objectif de cette étude descriptive a été atteint, car la séroprévalence, le profil socio démographique des patients infectés ont été déterminés et les problèmes affectant les activités de dépistage du Virus de l'Hépatite B 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 au Virus de l'Hépatite B 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, l'âge et le statut sérologique.

Les résultats de cette étude qui a porté sur 907 prélèvements reçus durant la période indiquée 2008 à 2009 et après un apport de la contribution à l'assurance qualité en 2010 sur 503 prélèvements permettent d'avoir une image relativement claire du dépistage au laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ. Notre étude ne saurât 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 au Virus de l'Hépatite B 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. [28].

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. [29].

Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de la situation du VHB dans les formations sanitaires. Sur un échantillon total de 1410 personnes dépistées, il a été enregistré 257 cas de positivité aux tests VHB, soit une séroprévalence 18,22 %.

### **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) : Ensemble des processus qui garantissent que les résultats finaux rendus par le laboratoire sont aussi exacts que possible. Ceci nécessite un contrôle des prélèvements, une élaboration des MON (Modes Opératoires Normalisés) et des SOPs (Standarding operating Procedures) une révision des procédés de transcription, l'utilisation des tests les plus fiables et la vérification des comptes rendus des résultats ;
- Contrôle de qualité (CQ) : Comprend les mesures qui doivent être prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier qu'elle se déroule correctement. Ceci comprend la vérification des conditions de température correctes, de l'existence de témoin de contrôle, etc. Ce CQ indique si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables. Le contrôle de qualité n'indique pas ce pendant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés ;

- Evaluation de la qualité (**EQ**) : Est le moyen de déterminer la qualité des résultats.

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

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

### **5.1.1. Choix des tests de dépistages rapides (TDR)**

Le test de dépistage rapide (TDR) du VHB est un test simple d'utilisation qui permet de connaître le statut sérologique d'une personne 2 semaines 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.

Le choix du ou des tests à utiliser, c'est à dire de la stratégie de dépistage la plus approprié, 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 Virus de l'hépatite virale B 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-ils utilisés lorsqu'il est nécessaire de réduire au minimum le taux de résultats faussement négatifs.

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

### **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 Détermine™ AgHBs:**

Le test Abbot Determine™ AgHBs est destiné à détecter les AgHBs 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 Détermine AgHBs n'exclut pas la possibilité d'une infection par le VHB. 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 AgHBs;
- Patient présentant des anticorps anti-HBs 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- VHB ;

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 ImmunoComb II®:**

La trousse ImmunoComb II® est un test de dépistage spécifique. La production d'AgHBs 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.

#### **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 Détermine AgHBs et ImmunoComb II<sup>®</sup> AgHBs peuvent être utilisés pour un dépistage rapide dans les régions peu développés ne disposant pas de laboratoires équipés.

Les séroprévalences étant supérieures à 10%, l'utilisation d'un test très sensible est indiquée pour le dépistage de l'infection à VHB.

## **5.2. Du point de vue des résultats.**

### **5.2.1. Résultat de la sérologie VHB par rapport au sexe.**

Dans notre étude, plus de la moitié 55% a été de sexe masculin contre 42% de sexe féminin avec 3% de sexe inconnus de 2008 à 2009 ; et en 2010, 57% de sexe masculin contre 43% de sexe féminin. Cette prédominance masculine peut résulter d'une influence conjuguée de facteurs immunitaires et sociaux (les hommes sont généralement plus en contact avec le milieu extérieur).

Des études faites en Europe [13, 29,30] et en Afrique [32] ont également montre que l'AgHBs était plus fréquent chez le sexe masculin que chez le sexe féminin. Ainsi En 2000 MIGLIAN et coll. ont trouvé en Madagascar une séroprévalence de 15,5% AgHBs positif chez le sexe masculin contre 13,7% chez le sexe féminin [31]. Dans cette étude le sexe féminin était le moins représenté.

La différence entre les deux sexes est statistiquement significative  $P < 0,05$ .

### **5.2.2. Séroprévalence de l'AgHBs selon la tranche d'âge**

Nous constatons une séroprévalence élevée des porteurs de l'AgHBs dans toutes les tranches d'âge. La tranche d'âge de 16 à 30 ans, active sexuellement était la plus touchée avec une prévalence de 36.6% de 2008 à 2009 et 35,9% en 2010. La différence entre les tranches d'âge est statistiquement significative  $P < 0,05$ .

La prévalence de 10,4% chez les moins de 15 ans indique une contamination importante dans la petite enfance. Plusieurs modes de transmission sont sans doutes associés : transmission verticale de la mère à l'enfant et transmission horizontale, à l'occasion d'échanges intrafamiliaux et de contamination transcutanées par érosions des téguments, plaies infectées.

Des études ont montré que la prévalence augmente progressivement avec l'âge jusqu'au groupe de 31 à 45 ans. L'augmentation est plus remarquée dans le groupe de 16 à 30 ans, peut être en raison de la transmission sexuelle du VHB [33].

Dans la littérature aux USA le portage d'AgHBs semble plus fréquent dans le groupe d'âge des jeunes adultes et dans ce groupe d'âge l'AgHBs sérique est plus fréquent chez le sexe masculin [14]. La faible prévalence a été observée chez les 65 ans et plus, avec 5,7% entre 2008 et 2009 ; 5,8% de portage AgHBs. A Madagascar la prévalence était 20,8% d'AgHBs positif dans la tranche d'âge de 2 à 4 ans contre 14,8% de plus de 35 ans [31].

## **6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.**

### **6.1. Conclusion.**

- La présente étude, portant sur la contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic du virus de l'hépatite virale B 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 étaient : le DETERMINE<sup>TM</sup> AgHBs, l'IMMUNOCOMB II<sup>®</sup> AgHBs, l'HEPA-SCAN.

La séroprévalence globale de notre étude était de 18,22%.

- Le sexe ratio était de 1.31 en 2008-2009 et 1.12 en 2010.
- 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.
- Bien que les résultats étudiés ne soient représentatifs à la population générale, la séroprévalence obtenue confirme la forte endémicité de l'infection par VHB au Mali. Elle était plus forte que celle de la population des donneurs de sang du CNTS de Bamako.
- La séroprévalence était élevée chez le sexe masculin ; la tranche d'âge de 16 - 30 ans était la plus touchée.
- La séroprévalence était variable en fonction des années, mais durant la période d'étude le sexe masculin a gardé la forte séroprévalence.
- La fréquence du dépistage était variable en fonction des années, mais nous remarquons une nette évolution en 2010.
- Au Mali la lutte contre le paludisme et le VIH/SIDA est perçue comme problème de santé publique et suscite un engouement et l'implication des autorités, malheureusement le traitement de l'hépatite B n'est pas d'actualité

au Mali, malgré qu'il existe des molécules pouvant entraîner la guérison de cette infection.

## **5.2. Recommandations.**

Au terme de cette étude nous pouvons formuler les recommandations suivantes Envers:

### **❖ Les autorités sanitaires**

- Faire le contrôle de qualité externe au laboratoire.
- Assurer la formation continue du personnel de laboratoire.
- Mettre à la disposition du laboratoire des stocks de réactifs nécessaires pour les analyses de VHB et renforcer parallèlement le plateau technique.
- Améliorer la sensibilisation au niveau de la population générale.
- Renforcer la protection de la population par la vaccination contre l'hépatite B.
- Rendre obligatoire la vaccination contre le VHB chez les personnels de santé.
- Rendre accessible le dépistage de l'AgHBs par l'utilisation des tests très sensibles et à moindre coût.
- Renforcer les capacités en ressources humaines et matérielles des centres de diagnostic pour un meilleur dépistage du VHB.
- Rendre obligatoire le dépistage du VHB au cours de la grossesse et assurer une meilleure prise en charge des cas.
- Renforcer la politique de sensibilisation sur les IST et sur l'hygiène, en ciblant les populations particulièrement exposées.
- Organiser des séminaires de formation et d'information sur le risque liés au travail de laboratoire, les bonnes pratiques de laboratoire et les moyens de protection contre VHB.

❖ **Le personnel de laboratoire**

-Appliquer les règles de bonne pratique de laboratoire en vue de réduire la contamination en milieu professionnel des pathologies en générale et du VHB en particulier.

-Reconduire les renseignements initiaux sur les bulletins de séparation.

❖ **La population**

- Appliquer des règles élémentaires d'hygiène au sein des foyers.

- Faire le dépistage pour connaître leur statut sérologique.

- Limiter le nombre de ses partenaires sexuels.

- Eviter le perçage de la peau ou le tatouage.

## **7. 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. QUARANTA J. F., VIRINUS-NEBOT M., TICCHIONI M., et Coll. (3).**

L'abécédaire des hépatites virales. Feuilles de Biologie 1991, P:32-7.

**5. MOMME J A., MARIN H., ZYLBERG H., STANISLAS POL.** 1999. Mise au point : Vaccination prophylactique contre l'hépatite B : Actualité et avenir. Gastro Enterol Clin Biol, chap 23. P : 452-63.

**6. DEMBELE. N.** Séroprévalence de l'infection par le VHB chez les scolaires âgés de 15 à 25 ans à Bamako, Koulikoro et à Sikasso. Thèse pharm. 2006. N° 41.

**7. FLEURY H.J.A.,** 1997 Abrégé de virologie. Paris: Masson ; P : 191.

**8. MARCELLIN P., ZARSKI J.P. 1996** Les virus des hépatites B et Delta. In : Briand P. (éd). Les virus transmissibles par le sang. Monrouge-Londres-Rome : John Libbey Eurotext, P:53-75.

**9. Hépatites Info service : Quelques chiffres sur l'hépatite B**

[http://www.hepatites-info-service.org/article.php3?id\\_article=89](http://www.hepatites-info-service.org/article.php3?id_article=89)

(Consulté le 20 juin 2010).

**10. MAMMET A.** Virologie médicale. La Madeleine : 14<sup>e</sup> édition C et R ,1992 ; P : 469.

**11. TREPO C. MERLE P. ZOULIM F : HEPATITE B**

[Http://fr.wikipedia.org/wiki/Hépatite\\_B.html](Http://fr.wikipedia.org/wiki/Hépatite_B.html) (consulté le 13 Mai 2008).

**12-JOSIANE PILLONEL et SYRIA LAPERCHÉ.**

Surveillance des marqueurs d'une infection par le VIH, HTLV, et les virus des hépatites B et C chez les donneurs de sang en France. Bulletin épidémiologique hebdomadaire n°46 2001.

**13-GENTILINI M.** Médecine tropicale. Paris : Flammarion 1993, 928.

**14-APPIT,** Hépatites virales. In: APPIT, ed. E Pilly, Montmorency: 2M2 Ed 1997:346-59.

**15-LAROUSSE B.** Données actuelles sur les hépatites virales, journées de l'hôpital Claude Bernard Paris, 1986, éd ARNETTE, 1985, 162 P.

**16-SACKO M.** Etude séro-épidémiologique de la transmission mère-enfant de l'hépatite B dans le district de Bamako. Thèse Méd., Bamako 1998 N° 66.

**17-TREPO C.** Virus des hépatites. Revue du praticien 1995 ; 45 :161-67

**18-ROBISON W.S.** Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In : MANDELL editors 1995 ; 4 :1406-32

**19-N JOH. J.,** Prevalence of hepatitis B virus markers among drug dependent patients in Jeddah Saoudi Arabia. East African medical Journal 1995; 72 (8): 490-91.

**20- DECOSTER A. LEMAHIEU J C. DECHECQ E. GONTIER P. DUHAMEL M :** Virus des hépatites

<http://anne.decoستر.free.fr/d1viro/vhepat0.html> (consulté le 22 janvier 2008).

**21-SIDIBE .S.** Les marqueurs sérologiques de l'hépatite B au Mali ; Thèse Méd., Bamako 1980.

**22-GUINDO O.** Infection VIH et VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse pharm. Bamako 2003.

**23-Laboratoire ABBOTT** Division Diagnostic 12, rue de la Couture SILIC 203 F-94518 RUNGIS Cedex.

**24-Notice du fabricant du réactif [www.orgenics.com](http://www.orgenics.com).**

**25-TEMBELY K**

Les transaminases chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako.

Thèse Pharm. Bamako 2002, N°21.

**26-TANGARA O :** Coinfection hépatite B et Hépatite C chez les donneurs de Sang au CNTS de Bamako. Thèse pharm. 2004, N°61.

**27- LEMAN S.M., THOMAS D.L.** Vaccine to prevent viral hepatitis. NEngl J Med, 1997; 336: 196-204.

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

**29. COULIBALY K.** Contribution à l'étude de la transmission verticale de l'hépatite B. Prévalence de l'AgHBs chez 206 couples mère-enfants. Thèse pharm 1983 Bamako.

**30. KEW M.C. RETS P., MACNAB G.M., SETTEL H. C., BERSON N.I.** The witch doctor and tribal scarification of the skin and the hepatitis antigen. South Af-Med J. 1973; 47: 2419-420.

**31. MIGLIANI.R, RAKOTO ANDRIANARIVELO.M, ROUSSET.D et coll.**

Séroprévalence de l'hépatite virale B dans la ville de Mahajanga à Madagascar en 1999. Méd Trop. 2000 ; 60 : 146-50.

**32. DAO.S, DIALLO.S, COULIBALY A. K.** Etude du portage de l'AgHBs chez les patients dépistés à l'Institut National de Recherche en Santé Publique au Mali (Bilan de 10 années de sérologie 1997-2006). Bamako, Mali. Revue

**33. FOFANA Y, TANGARA A, SIDIBE S, COUROUSE A M.**

Contribution à l'étude de l'AgHBs porté par des sujets apparemment sains au Mali. Rev Fr Transf. Immuno. Hemato 1981, 537-43.

**34.** [http://fr.wikipedia.org/wiki/Assurance\\_qualite](http://fr.wikipedia.org/wiki/Assurance_qualite) (15 Janvier 2010)

**35.** [www.unilabs.fr/Infos-Patients/La-Qualite/](http://www.unilabs.fr/Infos-Patients/La-Qualite/) (8 Février 2010)

**36.** <http://www.pasteur.mg/IMG/pdf/demqual.pdf> (15 Février 2010)

**37.** [www.lbj.fr](http://www.lbj.fr) MANUEL QUALITE (Janvier 2011)

## 8. ANNEXES

### 8.1. Annexe 1.

#### CHU GABRIEL TOURE

#### MODE OPERATOIRE NORMALISE

#### TITRE : PRELEVEMENTS SANGUINS

Rédigé le : Par : COULIBALY Aminata Visa :

Vérifié le : Par : Dr SANGARE Samba. A

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

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

#### Exemplaires :

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie
- Classeur

## **Documents Qualité liés**

### **MAQ : MQ**

**P** : Procédure d'hygiène et sécurité

**MO** : Mode opératoire des prélèvements sanguins

**E** : Registre central

## **Buts**

Décrire le mode opératoire de la réalisation des prélèvements sanguins.

## **Domaines et personnels concernés**

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

## **Abréviations/Définitions**

## **Références**

GBEA.

## **Contenu**

### **MODE OPERATOIRE DES PRELEVEMENTS SANGUINS**

#### **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, 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.

### **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 anticoagulants 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.

8.2. Annexe 2.

**CHU GABRIEL TOURE**

**MODE OPERATOIRE NORMALISE**

**No :**

**TITRE :** Test de dépistage du Virus de l'Hépatite Virale B par détermine

Ag HBs :

Rédigé le :	Par : COULIBALY Aminata	Visa :
Vérifié le :	Par : SANGARE Samba. A	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**

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

**Exemplaires : classeur de sérologie**

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie
- Classeur

## **Documents Qualité liés**

**MAQ** : Manuel Qualité

**P** : Procédure d'hygiène et sécurité

**MO** : Mode opératoire de test de dépistage du Virus de l'Hépatite Virale B par détermine Ag HBs.

**E** : Registre central

### **Buts**

Décrire le mode opératoire de test de dépistage du VHB par détermine Ag HBs

### **Domaines et personnels concernés**

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

### **Abréviations/Définitions**

### **Références**

GBEA.

### **Contenu**

**Sérodiagnostic du Virus de l'Hépatite Virale B par le Détermine Ag HBs**



**Figure 18 :** Kit du test Détermine Ag HBs.

### **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 50 $\mu$ l 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 50 $\mu$ l 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) :

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

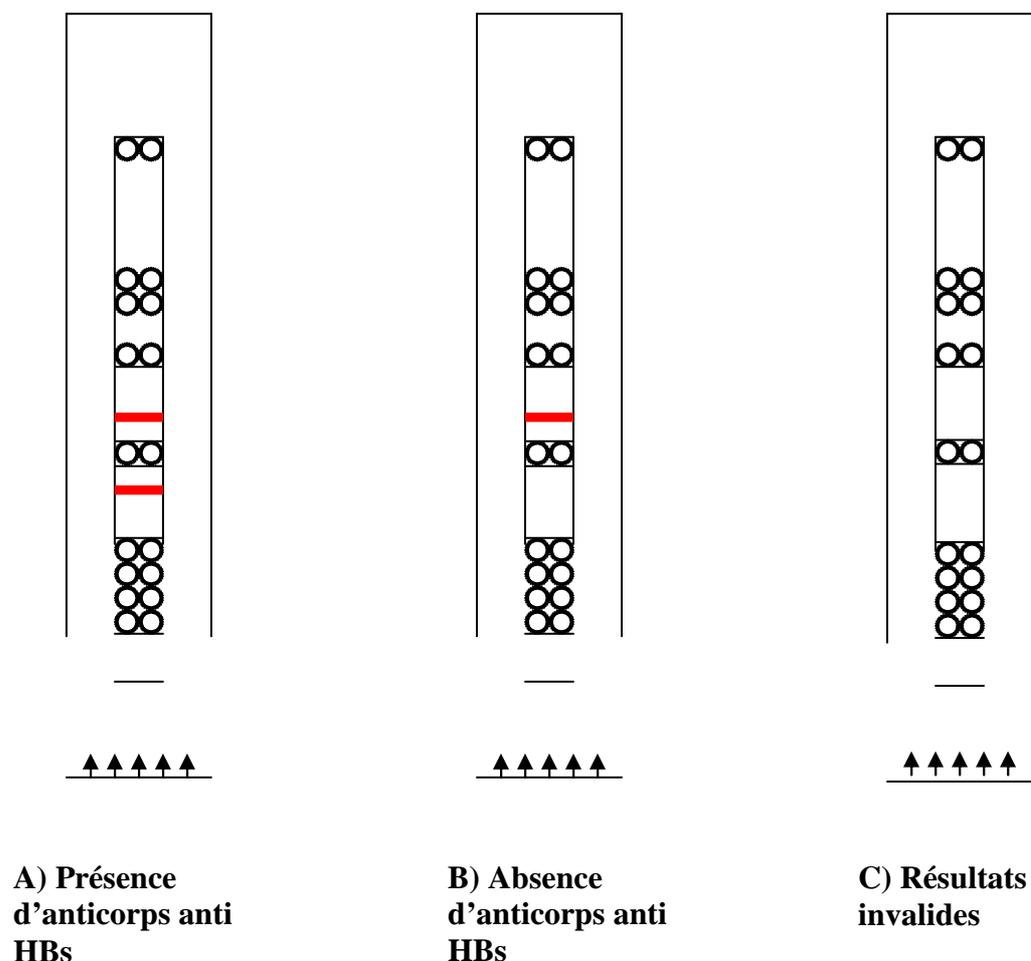


Figure 19 : Interprétation des résultats.

**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. **LABORATOIRE ABBOTT DIVISION DIAGNOSTIC 12**, rue de la Couture SILIC 203 F-94518 RUNGIS Cedex.

### 8.3. Annexe 3.

## HOPITAL GABRIEL TOURE

### MODE OPERATOIRE NORMALISE

No :

**TITRE :** Test de dépistage du Virus de l'Hépatite Virale B par Immunocomb II:

Rédigé le : Par : COULIBALY Aminata Visa :  
Vérifié le : Par : SANGARE Samba .A 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

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

### Exemplaires : classeur de sérologie

- Classeur Assurance Qualité
- Classeur Laboratoire de sérologie
- Classeur

### Documents Qualité liés

**MAQ** : Manuel Qualité

**P** : Procédure d'hygiène et sécurité

**MO** : Mode opératoire de test de dépistage du VHB par Immunocomb II

**E** : Registre central

### **1. Buts**

Décrire le mode opératoire de test de dépistage du VHB 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 Virus de l'Hépatite Virale B par l'Immunocomb II**

#### **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 dessiccant. 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 120 minutes exactement à 37°C. Homogénéiser 2 fois supplémentaires pendant l'incubation. A l'approche des 120 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 120 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 30 minutes. Homogénéiser comme dans l'étape 3b. Perforer le film du compartiment D. Au terme de 30 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 20 minutes. Perforer le film du compartiment E. Au terme des vingt 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.

Révélation (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

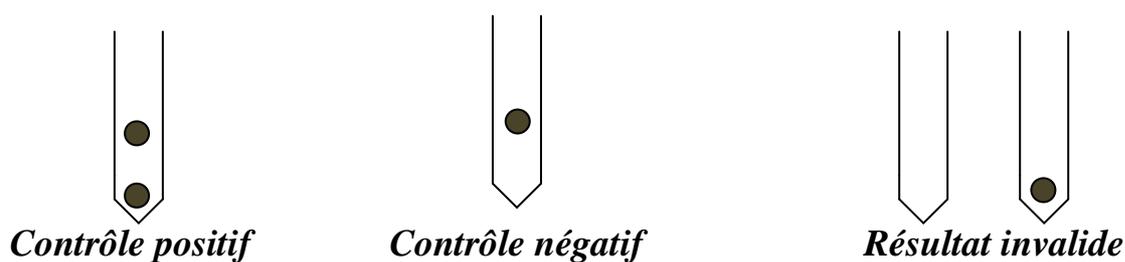
(Spot supérieur)

3. Tout échantillon testé doit présenter le Spot de contrôle interne

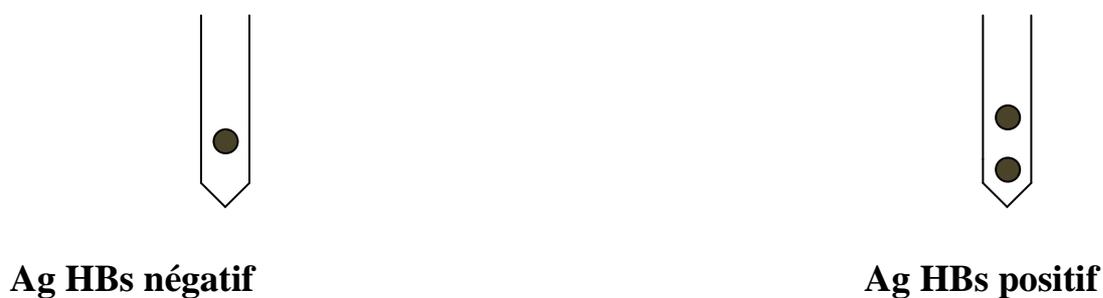
(Spot supérieur), confirmant un dépôt correct de l'échantillon

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°20** : Validation des résultats.



**Figure N°21** : Résultats du test IMMUNOCOMB II®

### Lecture des résultats :

Comparer l'intensité du spot inférieur de chaque dent avec l'intensité du spot inférieur de la dent du contrôle négatif.

- Un spot présentant une intensité supérieure à l'intensité du spot du contrôle négatif, est considéré comme un résultat positif présentant une concentration en AgHBs  $\geq 0.5$  ng/ml.
- L'absence de spot, ou un spot présentant une intensité ou égale à l'intensité du spot du contrôle négatif, est considéré comme un résultat négatif

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. [24]**

**Principe du test**

**MODE OPERATOIRE D'UTILISATION IMMUNOCOMB<sup>R</sup>II HBs Ag -**

Version N° 1

Rédigé le :	1/5/2010	Par :	COULIBALY Aminata	
Vérifié le :		Par :	TOURE Issaka	Visa :
Approuvé le :		Par :	Dr Souleymane DIALLO	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification :				
Archivé le :				

**X Document provisoire**

**Destinataires**

Biologiste responsable	Responsable assurance qualité	Techniciens biologistes	Etudiants FFI
---------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------------

**Exemplaires:**

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

❖ **Documents Qualité liés**

**MAQ : MQ**

**P** : Procédure d'hygiène et sécurité

**MO** : Mode opératoire des prélèvements sanguins

**E** : Registre central

❖ **Domaines et personnels concernés :**

Paillasse d'immuno virologie du laboratoire.

❖ **Abréviations/Définitions**

❖ **Références**

Notice du fabricant du réactif **www.orgenics.com**

**3.9.1. Principe**

La trousse Immuno CombII AgHBs est un test immunoenzymatique en phase solide. La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en deux points ou spots de réaction :

- spot supérieur : sérum albumine bovine biotinylé (contrôle interne)
- Spot inférieur : anticorps monoclonaux anti HBs

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et prés distribués dans le Bac de développement qui est divisé en 6 compartiments de 12 puits chacun. Chaque compartiment correspond à un réactif et à une étape du test. Le test consiste à transférer le peigne d'un compartiment à l'autre à la fin de chaque temps d'incubation du puit concerné. A la dernière étape du test, les résultats sont visualisés sous forme de spots gris bleus à la surface des dents du peigne. La spécificité du test est de 99,25% et la sensibilité de 100%.

❖ **Prélevement:**

Sang total recueilli sur tube EDTA ou tube sec. Le test est réalisé sur du Sérum, du plasma obtenus à partir du sang total recueilli sur tube EDTA. Si le test n'est pas réalisé dans les minutes qui suivent, le prélèvement peut être conservé :

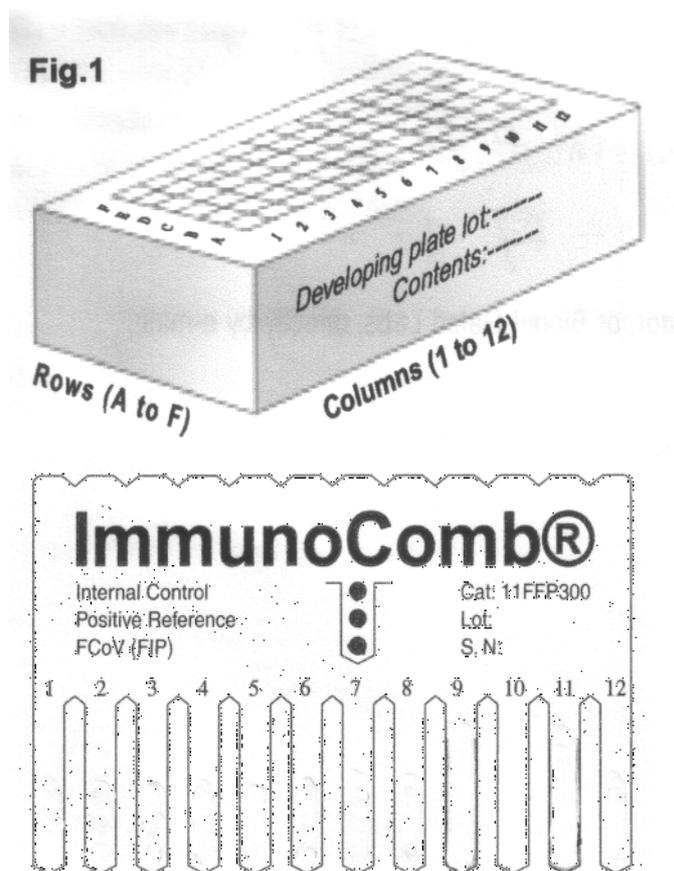
- Entre +2 et +8°C pendant 7jours (sérum, plasma et sang total)
- Congeler à -20°C au delà de 7jours (sérum et plasma)

❖ **MATERIELS:**

- Chronomètre
- Micropipette et cônes
- Papier absorbant
- Portoir et tube
- Gant latex et blouse
- Marqueur indélébile
- Boite de sécurité Alcool 70°C
- Eau de javel à 0,10 %
- Tube EDTA ou Tube sec
- Aiguilles Vacutainer
- Garrot
- Coton hydrophile

## ❖ REACTIFS

- Trousse ImmunoComb HBsAg



**Figure 22:** Composants principaux de la trousse ImmunoComb AgHBs.

## ❖ Protocole du test:

Durant le test, toutes les incubations devront être faites à une température de 37°C. Le bac de développement devra être pré incubé pendant 45 minutes à 37°C dans une étuve ou au bain marie avant le début de la manipulation. Les autres composants de la trousse et les échantillons à tester seront équilibrés à la température ambiante. Pour débiter le test:

- Sortir le nombre de peignes correspondant au nombre d'échantillons de leur emballage, les identifier

- Percer le nombre de puits correspondant au nombre d'échantillons sur la rangée A de la cuve.
- Introduire en aspirant et en refoulant pour bien homogénéiser, 75 µL de sérum dans chaque puit correspondant de la cuve.
- Insérer le peigne dans les puits correspondant (coté imprimé nous faisant face) en effectuant des mouvements de montée et de descente pour une bonne homogénéisation.
- Déclencher le chronomètre pour une incubation de 120 minutes du peigne dans le puits.
- Après 120 minutes, sortir le peigne et égoutter par sur le papier absorbant
- Percer les puits B et y insérer le peigne en effectuant les mêmes mouvements qu'au point 4 puis laisser incuber 2 minutes.
- Répéter 6 puis insérer le peigne dans les puits correspondant du compartiment C en effectuant des mouvements de montée et de descente pour homogénéiser et laisser incuber 30 minutes.
- Insérer le peigne dans les puits du compartiment D en homogénéisant comme précédemment et incuber 20 minutes.
- Insérer le peigne dans les puits du compartiment E et incuber 2 minutes.
- Insérer le peigne dans les puits du compartiment F en homogénéisant comme précédemment et incuber 10 minutes.
- Insérer le peigne dans les puits du compartiment E et incuber 1 minute.
- Sortir le peigne et le sécher à l'air libre

#### ❖ **LECTURE ET INTERPRETATION DES RESULTATS :**

##### ➤ **Lecture des résultats (Validation technique)**

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, les trois conditions suivantes doivent être remplies.

-le contrôle positif doit présenter deux spots sur la dent

- le contrôle négatif doit présenter uniquement le spot de contrôle interne (spot supérieur) ;

-Tout échantillon testé doit présenter le spot de contrôle interne (spot supérieur).

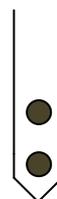
Si une de ces conditions n'est pas remplie, les résultats ne peuvent être validés. Dans ce cas, échantillons et contrôles doivent être retestés.

Lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti HBs

Un spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'ag HBs.



**Ag HBs négatif**



**Ag HBs positif**

#### ❖ **Interprétation des résultats**

Les résultats positifs obtenus avec la trousse ImmunoComb II AgHBs indiquent une réactivité pour l'antigène HBs. Néanmoins, et comme tous les tests de diagnostic in vitro, les résultats positifs obtenus avec cette trousse doivent être considérés en tenant compte des symptômes du patient et de son dossier clinique. Les résultats peuvent être complétés par un test de neutralisation

#### ❖ **Contrôle de qualité**

Il est recommandé, pour chaque lot de tests, de procéder à un contrôle avec un sérum négatif et un sérum positif connus pour s'assurer du bon fonctionnement des tests. La validité du résultat de chaque test est assurée par le bon fonctionnement du témoin qui jouera le rôle de contrôle interne du test.

#### ❖ **Enregistrement des résultats.**

Les résultats seront enregistrés sur le registre des résultats avec la date et le nom du manipulateur. Les peignes séchées seront conservés sur des fiches puis rangées dans le classeur des documents d'archives de résultats.

#### **❖ Hygiène et sécurité**

Il est de la responsabilité du personnel technique qualifié de procéder à la décontamination.

Tout le petit matériel contaminé qui résiste à la chaleur humide sera stérilisé à l'autoclave.

Les portoirs, plateaux, et autres matériels assimilés seront nettoyés à une solution d'eau de Javel à 8° diluée au 1/5 puis rincés à l'eau. Il en sera de même pour les surfaces de travail et centrifugeuses.

Avant, pendant et après toute manipulation, nettoyer la paillasse à l'eau de javel et décontaminer le matériel souillé.

Les déchets produits par la manipulation sont éliminés suivant une procédure de tri et de décontamination bien établie.

On distingue les déchets assimilables à des ordures ménagères, les déchets piquants, coupants ou tranchants, et enfin, les déchets solides mous et tous les autres déchets solides d'origine biologique. Tous ces déchets sont triés et jetés dans des poubelles identifiées et placées aux points stratégiques de productions de déchets du laboratoire. Tous les déchets biologiques sont décontaminés et éliminés par incinération.

Le port de la blouse et de gants est obligatoire. Il est interdit de manger, boire, fumer et d'appliquer des produits cosmétiques au laboratoire.

8.6. Annexe 6.

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

<b>EXAMENS BIOLOGIQUES ET ECHANTILLON</b>	<b>TEMPERATURE DE CONSERVATION</b>	<b>DUREE</b>
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
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

## 7.8. Annexe 8. Chronogramme des activités

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

Activités	Temps	2011																
		2008	2009	2010				2011										
				A	S	O	N	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	
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										A								O
Correction de la thèse																		O_N
Soutenue et archivée																		D

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

## **8.7. 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 corrective.

### FICHE SIGNALETIQUE

Nom: COULIBALY

Prénom: Aminata

Email : [coulinita@yahoo.fr](mailto:coulinita@yahoo.fr)

Tél : 76309935/ 66031707.

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

Année : 2009 - 2010

Ville de soutenance : Bamako

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

Secteur d'intérêt: Virologie, Médecine.

#### ➤ **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 virus de l'Hépatite constitue un problème de santé publique dans le monde et notamment en Afrique subsaharienne.

Notre objectif était d'évaluer la qualité du laboratoire du CHU Gabriel TOURÉ dans le cadre du diagnostic de l'hépatite virale B.

Il s'agit d'une étude rétrospective de 2008 à 2009 et prospective pendant l'année 2010. Cette étude portait sur des malades hospitalisés ou non et des volontaires référés au laboratoire pour un dépistage ou une confirmation d'infection au VHB.

Pour l'évaluation du laboratoire nous avons utilisé le logiciel Microsoft Excel – Logi-Evaluat-labo.xls et choisi une grille d'intervalle pour apprécier les paramètres étudiés. Quant au diagnostic de l'Hépatite Virale B, il a été fait avec les tests rapides DETERMINE™ AgHBs, l'IMMUNOCOMB II® AgHBs, l'HEPA-SCAN.

Au terme de cette étude nous avons trouvé 154 cas de positivité aux tests AgHBs sur une population 907 patients, soit une séroprévalence de 17% parmi ceux-ci 381 femmes et 499 hommes en 2008-2009 et 103 cas de positivité aux tests AgHBs sur une population 503 patients, soit une séroprévalence de 20.7% en 2010.

L'évaluation du laboratoire a été bon en général et notre contribution à l'assurance qualité dans le diagnostic sérologique de l'AgHBs dans une structure hospitalière comme le CHU Gabriel TOURÉ a permis de rehausser sans doute la qualité du dépistage du VHB dans le Laboratoire.

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

**Mots clés :** Assurance qualité, AgHBs, HVB, diagnostic sérologique, Bamako.

## FACTS

Name: COULIBALY

First name: Aminata

Email: [coulinita@yahoo.fr](mailto:coulinita@yahoo.fr)

Phone: 76309935/ 66031707

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

Year : 2010 - 2011.

City of defense : Bamako

Place of deposit : Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology.

Area of interest : Virology, Medicine, Health Public.

**Summary :**

Our work consisted in making a description of the setting of the survey and the different operations achieved to proceed to a comparison to norms of quality required and described by the Guide of Good Execution of medical biology Analyses.

The virus of hepatitis constitutes a problem of public health in the world and notably in sub-Saharan Africa.

Our objective was to value the quality of the laboratory of Gabriel TOURÉ in the setting of the hepatitis diagnosis viral B.

It is about a retrospective survey of 2008 to 2009 and prospective during the year 2010. This survey was about the hospitalized patients or no and of volunteers referred to the laboratory for a tracking or a confirmation of infection to the VHB.

For the assessment of the laboratory we used the software Microsoft Excel - Logi - Évaluat - Labo.xls and chosen a grid of interval to appreciate the studied parameters. As for the diagnosis of hepatitis Viral B, he/it has been made with tests fast DETERMINETM AgHBs, the IMMUNOCOMB II® AgHBs, the HEPA-SCAN,

To the term of this survey we found 154 cases of positivity to the AgHBs tests on a population 907 patient, both a séroprévalence of 17% among these 381 women and 499 men in 2008-2009 and 103 cases of positivity to the AgHBs tests on a population 503 patient, either a séroprévalence of 20.7% in 2010.

The assessment of the laboratory was in general good and our contribution to the insurance quality in the serological diagnosis of the AgHBs in a hospitable structure as it FALLEN Gabriel TOURÉ permitted to probably heighten the quality of the tracking of the VHB in the Laboratory.

However many remained to make concerning insurance quality.

Key words: Insurance quality, AgHBs, HVB, serological diagnosis, 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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

**Je le jure!**