

I.1.1. La laverie et la stérilisation.....	05
I.1.2. Le laboratoire proprement dit.....	05
I.1.3. L'accueil et la salle de prélèvement.....	07
I.1.4. Le secrétariat.....	07
I.2. Organisation du travail.....	08
I.2.1. La laverie et la stérilisation.....	08
I.2.2. Le secrétariat.....	12
II. FONCTIONNEMENT TECHNIQUE DU LABORATOIRE POUR LE DIAGNOSTIC DES MALADIES A POTENTIEL EPIDEMIQUE.....	14
II.1. Diagnostic au laboratoire de la méningite cérébro- spinale.....	14
II.1.1. Recueil et transport des échantillons.....	14
II.1.2. Traitement du LCR.....	15
II.2. Diagnostic au laboratoire de la dysenterie bacillaire.....	18
II.2.1. Recueil et transport des échantillons.....	18
II.2.2. Traitement des échantillons de selles.....	19
II.3. Diagnostic au laboratoire du choléra.....	21
II.3.1. Recueil et transport des échantillons.....	21
II.3.2. Traitement des échantillons de selles.....	21
III. EQUIPEMENT DU LABORATOIRE.....	24
III.1. La laverie.....	24
III.1.1. Les appareils.....	24
III.1.2. Le matériel.....	24
III.2. La salle de préparation.....	24
III.2.1. Les appareils.....	24
III.2.2. Le matériel.....	25
III.3. Le laboratoire proprement dit.....	25

III.3.1. Les appareils.....	25
III.3.2. Matériels.....	25
III.4. La salle de prélèvement.....	26
III.4.1. Prélèvement vaginal.....	26
III.4.2.	Autres 27
prélèvements.....	
III.5.	Le 27
secrétariat.....	
CHAPITRE 2 : LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	28
I. DEFINITION.....	28
I.1.	28
Epidémie.....	
I.2.	Surveillance 28
épidémiologique.....	
II. OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	28
III. ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	29
IV. METHODOLOGIE DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	30
IV.1. Collecte de l'information.....	30
IV.1.1.	Enregistrement des 30
données.....	
IV.1.2. Déclaration de l'information enregistrée.....	30
IV.2. Analyse de l'information.....	31
IV.2.1.	La validation des 31
données.....	
IV.2.2. Synthèse des données.....	31
IV.3. Interprétation des données.....	31
IV.3.1.	Etude 31
descriptive.....	
IV.3.2. La comparaison.....	31
IV.4. Diffusion de l'information.	32
IV.4.1.	Information des 32
décideurs.....	
IV.4.2. Rétro information des opérateurs.....	32
V. QUALITES DU SYSTEME DE SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE.....	33
V.1. Capacité d'identification des cas d'épidémies.....	33

V.2. Faisabilité.....	33
V.3. Pertinence.....	34
V.4. La souplesse.....	34
V.5. représentativité.....	La 34
V.6. régularité.....	La 34
V.7. La ponctualité.....	34
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL PERSONNEL.....	35
I. CADRE D'ETUDE ET PERIODE D'ETUDE.....	36
I.1. Cadre d'étude.....	36
I.2. d'étude.....	Période 36
II. MATERIELS METHODES.....	ET 36
II.1. Matériels.....	36
II.2. Méthodes.....	37
II.2.1. Préparation de l'enquête.....	37
II.2.2. Organisation de l'enquête.....	de 37
II.2.3. Déroulement de l'enquête.....	de 38
III. RESULTATS.....	39
III.1. Données générales.....	39
III.1.1. Répartition par niveau.....	39
III.1.2. Répartition par région.....	39
III.2. Fonctionnement.....	40
III.2.1. Supports.....	40
III.2.2. Locaux.....	40
III.2.3. Sécurité.....	au 40

laboratoire.....	
III.2.4. technique.....	Plateau 41
III.3. humaines.....	Ressources 41
III.3.1. personnels.....	Types de 41
III.3.2. personnels.....	Formation reçues par les 42
III.3.3. guides.....	Disponibilités de manuels et de 42
III.4. Contrôles de qualité / évaluation externe / système de référence.....	42
III.4.1. Contrôle de qualité interne.....	42
III.4.2. réactifs.....	Contrôle des équipements et 43
III.4.3. Maintenance des équipements.....	43
III.4.4. externe.....	Evaluation 43
III.4.5. Supervision.....	43
III.4.6. Participation à un système de contrôle de qualité.....	43
III.4.7. Commodités.....	44
III.4.8. Système de référence.....	44
III.5. Gestion des stocks.....	44
III.6. Notifications.....	45
III.6.1. Déclarations de maladies sous surveillance.....	45
III.6.2. Rapport sur les germes à potentiel épidémique.....	45
III.6.3. Rapport sur la sensibilité des germes.....	45
IV. Analyses et commentaires.....	46
IV.1. Les acquis.....	46
IV.1.1. Existence de laboratoires.....	46
IV.1.2. Fonctionnement.....	46
IV.1.3. laboratoire.....	Sécurité au 46
IV.1.4. Plateau technique disponible.....	46

IV.1.5.	Evaluation	46
externe.....		
IV.1.6.		47
Commodités.....		
IV.1.7.	Formations	reçues
personnel.....	par	le
IV.2.		Les
insuffisances.....		47
IV.2.1. Fonctionnement.....		47
IV.2.2. Les locaux.....		47
IV.2.3. La sécurité au laboratoire.....		47
IV.2.4. Les ressources humaines.....		48
IV.2.5.	Formations	reçues
personnel.....	par	le
IV.2.6. Disponibilité de manuels et de guides.....		48
IV.2.7. Assurance qualité.....		49
IV.2.8. Supervision.....		49
IV.2.9. Commodités.....		49
IV.2.10. Participation à la surveillance épidémiologique.....		49
V. DISCUSSION		ET
RECOMMANDATIONS.....		50
V.1. Données générales.....		50
V.2. Fonctionnement.....		50
V.2.1.		50
Supports.....		
V.2.2.		51
Locaux.....		
V.2.3.	Sécurité	ou
laboratoire.....		51
V.2.4.	Plateau	technique
bactériologique.....		52
V.3. Ressources humaines.....		52
V.3.1.		Le
personnel.....		52
V.3.2.	Formation	reçues
personnel.....	par	le
V.3.3.	Disponibilité	de
	manuels	et
		53

guides.....	
V.4. Contrôle de qualité - évaluation externe - système de référence.....	54
V.4.1. Contrôle de la qualité.....	54
V.4.2. Contrôle des équipements et des réactifs.....	54
V.4.3. Maintenance des équipements.....	54
V.4.4. Evaluation externe.....	55
V.4.5. Supervision.....	55
V.4.6. Participation à un système de contrôle de qualité.....	55
V.4.7. Commodités.....	55
V.4.8. Système de référence-Notification.....	56
V.5. Gestion des stocks.....	57
V.6. Recommandations.....	58
V.6.1. Au Réseau National de Laboratoires.....	58
V.6.2. Aux responsables de laboratoires.....	58
V.6.3. Au Cabinet du Ministère de la Santé.....	58
V.6.4. Aux régions médicales.....	59
V.6.5. Aux structures hébergeant les laboratoires.....	59
V.6.6. Aux partenaires au développement.....	59
CONCLUSION.....	60
BIBLIOGRAPHIE.....	64
ANNEXES.....	74

INTRODUCTION

Le laboratoire d'analyse médical occupe une place prépondérante dans le secteur de la santé du fait de son rôle incontournable dans le diagnostic des maladies humaines, la surveillance de l'efficacité d'un traitement, mais aussi la surveillance des maladies à potentiel épidémique.

Pour jouer pleinement son rôle, le laboratoire a besoin d'être correctement équipé mais il doit surtout exister une structure chargée de sa supervision et de son contrôle. Cette nécessité a poussé les pays du bloc épidémiologique de l'Afrique de l'Ouest dont le Sénégal fait partie, à signer un accord de coopération sous l'égide de l'OMS pour mettre en commun leurs moyens et mettre l'accent sur le renforcement des capacités des laboratoires, grâce à la mise en place, dans chaque pays, d'un Réseau National de Laboratoires.

C'est ainsi que le Réseau National de Laboratoires (RNL) du Sénégal a été créé avec comme mission :

- De coordonner les activités des laboratoires dans tout le pays en particulier pour la confirmation rapide des épidémies.
- De contribuer à la surveillance des maladies à potentiel épidémique et des autres maladies sous surveillance.
- De contribuer au contrôle des épidémies.
- De participer à la surveillance des résistances des agents infectieux aux antibiotiques et antiparasitaires.
- De participer à une meilleure prise en charge sanitaire par la confirmation des maladies non épidémiques.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude qui a pour objectif, d'évaluer l'organisation et le fonctionnement des laboratoires et par conséquent d'apprécier leur rôle dans la surveillance des maladies bactériennes à potentiel épidémique. L'intérêt de cette étude est d'accroître la performance de nos laboratoires grâce à une uniformisation des techniques utilisées.

Notre plan comporte 2 parties :

Première Partie : Les rappels bibliographiques avec 2 chapitres

- Généralités sur le laboratoire de bactériologie

- La surveillance épidémiologique

Deuxième partie : Le travail personnel avec 5 chapitres.

- Cadre d'étude et Période d'étude
- Matériels et méthodes
- Résultats
- Analyses et commentaires
- Discussion et recommandations

PREMIERE
PARTIE :
RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUE
S

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LE LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

I. ORGANISATION ARCHITECTURALE [10, 16, 18, 39, 44]

I.1. L'installation et la répartition des locaux

La superficie minimale de l'ensemble des locaux ne peut être inférieure à 100m².

I.1.1. La laverie et la stérilisation

Les locaux servant de laverie et de salle de stérilisation doivent être suffisamment vastes, bien aérés et faciles à nettoyer. Le sol doit être cimenté ou carrelé, les surfaces de paillasse doivent être suffisantes pour servir, le cas échéant de surface de dégagement. La surface doit être lisse, d'un entretien aisé, résistante aux désinfectants et à l'humidité, la tôle d'acier inoxydable répond bien à ces exigences. Deux ou trois lavabos de taille suffisante (55 x 40 x 24) alimentés en eau chaude et froide ; complétés d'égouttoir, permettent de réaliser les vaisselles et les rinçages.

I.1.2. Le laboratoire proprement dit

La spécificité de la technique bactériologique impose que cette activité soit nettement séparée des autres secteurs du laboratoire.

a. Les locaux

Plutôt que d'organiser le laboratoire dans une seule et très grande pièce, il semble préférable de disposer de plusieurs unités plus petites.

Les locaux doivent être éclairés par la lumière du jour, l'orientation au nord permet de disposer d'un éclairage relativement régulier .

L'éclairage artificiel d'ambiance est dispensé par des tubes fluorescents qui permettent un bon rendu des couleurs.

Au niveau des postes de travail, un éclairage localisé supplémentaire est apporté au moyen d'une applique orientable placée, par exemple sur le dossier de la paillasse, et capable d'éclairer le plan de travail.

Les murs sont revêtus d'une peinture unie, claire, non éblouissante, lavable. Les revêtements muraux en carreaux de faïence donnent satisfaction. Le sol est carrelé. Le plafond est clair et réfléchissant.

b. Les paillasses et plans de travail

Les dimensions généralement prévues pour les paillasses sont les suivantes : 75 cm de profondeur, 130 cm de largeur par poste et une hauteur de 75 à 80 cm qui doit permettre le travail en position assise. Si plusieurs rangées de paillasses sont prévues, la distance les séparant ne doit pas être inférieure à 160 cm.

Le plan de travail doit être lisse, sous forme de plaques de verre teinté émaillé (Emalit) ou de verre teinté dans la masse (Pyroceram). Quoique plus coûteux, le Pyroceram est plus résistant et moins réfléchissant que l'Emalit. La couleur du revêtement sera neutre : blanc cassé, gris. Une paillasse spécifique à revêtement noir et mat sera prévue pour les observations microscopiques. Des meubles prennent place sous les paillasses. Les constructeurs prévoient de nombreux modèles possibles : tiroirs, placards simples ou doubles, étagères.

Les bacs de lavage sont de deux types :

- D'une part : les cuvettes, de petit volume, sont réservées à la réalisation des colorations.
- D'autre part : les cuves profondes destinées au lavage des objets volumineux.

c. Les hottes à flux laminaire

Il existe différents types :

- **Les hottes à flux horizontal** : utilisées pour les manipulations qui ne réclament que la protection du produit : remplissage aseptique, préparation de sérums et de milieu de culture, réalisation des cultures cellulaires.
- **Les hottes à flux vertical** : Elles doivent assurer, en plus de la protection du produit manipulé, celle du manipulateur ; c'est à dire que l'on ne doit observer, avec ces modèles aucune issue d'air de l'intérieur de l'enceinte vers l'extérieur.

I.1.3. L'accueil et la salle de prélèvement

Cette partie du laboratoire est destinée à l'accueil de l'ensemble des patients qui fréquentent le laboratoire. Elle doit comporter une salle d'attente contiguë au secrétariat avec lequel elle communique si possible par un guichet ou un comptoir. L'enregistrement des bulletins d'analyses est ainsi facilement réalisé. Si les salles de prélèvement ne peuvent s'ouvrir directement sur la salle d'attente, elles doivent être situées dans son voisinage immédiat. Les salles de prélèvement doivent avoir une surface suffisante (environ 12m²). Le sol doit être facile à nettoyer. Les salles doivent être équipées d'une arrivée d'eau (lavabo ou évier) et d'une paillasse avec arrivée de gaz. Il est intéressant pour la réalisation de certains prélèvements (selles, urines) d'installer dans cette pièce des toilettes où le patient peut s'isoler.

I.1.4. Le secrétariat

Il est contiguë à la salle d'attente avec laquelle elle communique par un guichet.

I.2. Organisation du travail

I.2.1. La laverie et la stérilisation

Y sont réalisés :

- Le nettoyage des récipients et de la verrerie
- La décontamination des cultures avant leur élimination
- L'élaboration, le conditionnement et le stockage des milieux de culture
- La préparation des réactifs et des colorants.

a. La désinfection

Elle est obligatoire pour l'essentiel du matériel provenant du laboratoire de bactériologie. Elle est effectuée par autoclavage ou par immersion dans des bains antiseptiques.

L'autoclavage utilisé pour la désinfection peut être effectué à une température supérieure à 120° et être prolongé ou renouvelé sans risques .

Des témoins papiers indicateurs par exemple permettent de contrôler l'efficacité de cette opération.

Après autoclavage, les tubes et flacons ou boîtes de Pétri contenant des milieux fondus sont immédiatement vidés alors qu'ils sont encore chauds. Le matériel non récupérable est alors jeté tandis que le matériel récupérable est dirigé vers la laverie proprement dite.

b. Le lavage

Le matériel est nettoyé par trempage suivi de goupillonnage à la main ou avec une goupillonneuse électrique avec de l'eau chaude additionnée de détergents synthétiques. Le nettoyage est suivi de plusieurs rinçages à l'eau courante puis à l'eau distillée.

c. La stérilisation

Plusieurs méthodes de stérilisation sont utilisés :

➤ Stérilisation par la chaleur sèche :

Elle utilise les Fours Pasteur, Poupinel.

- **Principe**

Toutes les bactéries et les spores bactériennes les plus thermorésistantes sont détruites en chaleur sèche par un chauffage de :

- 4h à 140°C
- 2h30 à 160°C
- 1/2h à 180°C

- **Matériel stérilisable par ce procédé**

- La verrerie : pipettes, tubes, flacons, ballons, boîtes de Pétri, etc.
- Les objets de porcelaine : mortiers, filtres, etc.
- Le matériel métallique : spéculums, pinces, ciseaux, etc.

➤ Stérilisation par la chaleur humide :

Elle utilise l'autoclave.

- **Principe**

Dans une atmosphère de vapeur d'eau exempte d'air, toutes les bactéries même sous leur forme sporulée sont tuées en 20 mn à 121°C.

- **Matériel stérilisable par ce procédé.**

- La verrerie : pipettes, tubes...
- Les milieux de culture sauf ceux qui ne supportent pas une température élevée.
- Les objets composés en partie ou totalement de caoutchouc ou de certaines matières plastiques dites autoclavables.

➤ **Stérilisation par filtration**

La filtration stérilisante consiste à faire passer le liquide à stériliser à travers une paroi poreuse ou une membrane qui retient les bactéries. Ce procédé permet de stériliser les liquides altérables par la chaleur tel que le milieu urée indole.

Le liquide obtenu à la sortie des membranes est stérile, il sera réparti aseptiquement dans les récipients destinés à son stockage.

d. Préparation des milieux de culture

La plupart des milieux sont vendus dans le commerce sous forme de poudre déshydratée. Habituellement on les dissout dans le volume d'eau approprié, on les stérilise et on les répartit dans des récipients stériles adéquats. La répartition de certains milieux peut se faire avant stérilisation.

Les différents étapes de la préparation sont :

➤ **La pesée des ingrédients**

La quantité à peser est fonction du volume à préparer.

➤ **La dissolution des ingrédients**

Elle se fait généralement dans de l'eau distillé.

Les milieux gélosés doivent être agités jusqu'à dissolution complète des composants. La dissolution sera faite dans des récipients en verre et à chaud.

➤ **L'ajustement du PH**

La mesure du PH se fait le plus souvent par la méthode colorimétrique : en utilisant soit des papiers indicateurs soit des réactifs colorés en solution. On peut aussi utiliser de petits PH mètres portatifs à affichage numérique. On ajuste le PH selon le cas avec de la soude N/10 si le PH est trop bas ou avec de l'acide chlorhydrique N/10 s'il est supérieur au PH désiré.

➤ **La répartition**

Elle peut se faire avant stérilisation, il s'agit généralement d'une répartition en tubes ou en flacons.

Pour les milieux coulés en boîtes, la répartition se fait après stérilisation.

➤ **Stérilisation des milieux répartis**

Elle sera faite à l'autoclave. Certains milieux qui ne tolèrent pas ce traitement doivent être filtrés puis répartis aseptiquement.

➤ **Vérification de la stérilité des milieux**

Les milieux seront maintenus pendant 48h à l'étuve à 37° avant leur utilisation ou leur stockage. Cette vérification portera sur la totalité du lot préparé ou sur plusieurs échantillons de chaque lot.

➤ **Stockage des milieux**

• **Marquage des milieux**

Il permet d'identifier les milieux et le lot de fabrication.

- **Marquage des tubes** : Il peut se faire de plusieurs manières telles que l'utilisation de rubans adhésifs de couleur, capsules de différentes teintes, initiales tracées au crayon à verre.
- **Marquage des boîtes** : Il est conseillé de porter les inscriptions sur les boîtes.

• **Conditions de conservation**

Les milieux de culture seront entreposés à l'obscurité et au frais dans une atmosphère dont l'humidité relative est faible pour éviter les moisissures.

Dans certains cas précis il faut les garder au réfrigérateur à +4°C.

Les délais de conservation varient suivant la composition du milieu ; il est en moyenne de :

- 3 à 6 mois pour les milieux d'usage courant en culot ou en flacons
- 15 jours pour les milieux d'usage courant en position inclinée.
- 2 à 3 jours pour les milieux d'usage courant coulés en boîte (un conditionnement en sachet plastique sous vide prolonge à 15 jours le délai de conservation).

➤ **Contrôles bactériologiques**

Ils s'effectuent sur chaque lot de fabrication prêt à l'emploi. Il existe dans le commerce des micro-organismes spécialement destinés au contrôle et présentés sous forme lyophilisée ou déshydratée sur disque de papier. Cette formule donne un maximum de garantie et permet un gain de temps et de place.

➤ **Préparation des colorants**

Une méthode courante pour les laboratoires ou la consommation de colorants n'est pas trop importante consiste à utiliser des colorants phéniqués en ampoules scellées de 5ml.

Ainsi on verse dans un ballon 10ml d'alcool à 95° puis on ajoute le contenu de l'ampoule, on complète ensuite à 100ml avec 90ml d'eau distillée très chaude. Le colorant fabriqué est filtré après 24h.

I.2.2. Le secrétariat

Les demandes d'analyses y sont enregistrées puis distribuées aux secteurs techniques pour leur exécution. Les résultats y sont aussi mis en forme avant d'être rendus .

Il dispose d'un système informatique permettant d'obtenir divers types de statistiques :

- Statistiques de gestion : concernant la liste des examens quotidiens, les relevés périodiques d'activités, la liste des examens pratiqués.
- Statistiques épidémiologiques : Elles concernent la liste des bactéries transmissibles isolées pendant une période donnée (méningocoques, salmonelles, bacilles de koch), la surveillance des infections dans les hôpitaux selon les services, la surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques. Il permet aussi le contrôle interne de la qualité des analyses par les bordereaux informatiques.

II. FONCTIONNEMENT TECHNIQUE DU LABORATOIRE POUR LE DIAGNOSTIC DES MALADIES A POTENTIEL EPIDEMIQUE

II.1. Diagnostic au laboratoire de la méningite cérébro-Spinale

II.1.1. Recueil et transport des échantillons [1, 6, 7, 13, 56]

a. Technique de prélèvement du liquide céphalo-rachidien

Le prélèvement se fait par ponction lombaire pratiquée sur un malade assis fortement penché en avant ou placé en décubitus latéral, le dos rond chez le malade confus.

Après désinfection soigneuse à l'alcool iodé de la zone de ponction ainsi que des mains de l'opérateur, l'aiguille à ponction munie de son mandrin est introduite entre la 4^{ème} et 5^{ème} vertèbre lombaire puis enfoncée de façon parfaitement médiane et droite mais légèrement vers le haut .

L'opérateur ressent une certaine résistance qu' il force. On retire le mandrin et on laisse couler le liquide dans trois tubes pour étude cytologique, chimique, et bactériologique. L'aiguille est ensuite retirée et l'on demande au malade de rester allongé pendant une heure.

b. Transport au laboratoire

Le liquide céphalo-rachidien (LCR) prélevé est transporté à l'abri des rayons solaires et en évitant les écarts thermiques au laboratoire, pour être examiné le plus tôt possible.

Si l'examen doit être retardé de plusieurs heures , le LCR sera incubé à 37°C .

Si le transport au laboratoire est impossible le même jour, le LCR sera inoculé aseptiquement à la seringue dans un milieu Trans-Isolate (T-I) qui est un milieu de culture, de conservation et de transport .

II.1.2. Traitement du LCR [1, 13, 26, 29, 32, 37, 45, 53, 55]

a. Etude cytologique

On effectue d'abord une numération leucocytaire avec la cellule de Nageotte. On retrouve le plus souvent 1000 à 2000 leucocytes/mm³ .

On établit ensuite une formule leucocytaire après centrifugation du LCR. On réalise alors un frottis coloré au May Grunwald Giemsa. Ce frottis révèle une hyperleucytose avec une forte prédominance de polynucléaires neutrophiles altérés.

b. Etude chimique

La gamme de Mastrezat est utilisée pour le dosage du taux d'albumine dans le LCR.

On retrouve en cas de méningite à méningocoque des valeurs supérieures à 3 g d'albumine/l pour l'enfant et l'adulte et supérieures à 0,8 g/l chez le nourrisson.

La glucorachie est fortement abaissée (0,2 à 0,3 g/l), s'accompagnant d'une acidose du LCR (6,9 à 7,1).

c. Etude bactériologique

➤ Examen macroscopique

On note l'aspect du LCR comme suit : clair, trouble, purulent, xanthochromique, hématique.

Dans les méningites à méningocoque, le LCR est habituellement trouble.

➤ Examen microscopique

- Examen à l'état frais : Une goutte du LCR est examinée au microscope entre lame et lamelle à la recherche de leucocytes, érythrocytes, bactéries, levures.
- Examen d'un frottis coloré au Gram : Le frottis est examiné au microscope à l'objectif à immersion (x100), ce qui permet d'observer les agents microbiens.

Neisseria meningitidis est présent dans les polynucléaires et a l'aspect de diplocoque à Gram négatif en grain de café intra ou extracellulaire de taille régulière d'environ 0,8 microns de diamètre.

➤ Culture

Neisseria meningitidis pousse sur gélose au sang et sur gélose chocolat. Après ensemencement, les boîtes de gélose sont incubées à 37°C sous atmosphère riche en CO₂.

➤ Diagnostic de certitude

- Test de l'oxydase de KOVACS

Il permet de mettre en évidence une cytochrome oxydase. Ce test se fait à partir de colonies obtenues sur gélose au sang.

Ce test est positif lorsqu'apparaît une coloration violette dans les 10 secondes. *N. meningitidis* donne une réponse rapidement positive.

- Recherche d'antigènes solubles [2, 5, 13, 21, 22, 23, 36, 50, 54]

Elle fait appel à plusieurs techniques :

- L'agglutination au latex : Les sérogroupes A ,B,C,W135 et Y qui sont les plus fréquemment isolés au cours des méningites à méningocoque peuvent être identifiés grâce à des particules de latex sensibilisées.

Ce test s'effectue avec le surnageant de centrifugation du LCR chauffé pendant 5 minutes au bain-marie.

Une réaction positive se traduit par une agglutination donnant l'aspect d'amas de poussière dans les 2 minutes qui suivent l'opération.

- La technique de co-agglutination : On utilise un support particulaire à base de staphylocoque porteur de protéine A sur lequel sont fixés les anticorps.
- La contre-immunoélectrophorèse : Elle utilise la diffusion à contre sens des polysaccharides méningococciques et des anticorps dans un gel d'agarose soumis à une différence de potentiel.
- La technique Elisa : Elle est très sensible mais de réalisation lourde (appareillage, temps)
- La technique radio-immunologique (R I A)

Ces moyens de diagnostic rapide ont un triple intérêt :

- * Palier à l'insuffisance du diagnostic direct du fait du caractère paucimicrobien de la méningite à méningocoque.
- * Diagnostiquer la méningite même décapitée par une antibiothérapie.
- * Effectuer la surveillance épidémiologique dans les zones à risque épidémique dépourvues de laboratoire.

- **Utilisation des glucides**

L'étude de l'utilisation des glucides sert à compléter l'identification d'une souche de *N. meningitidis*.

Différents sucres sont ajoutés à une base gélosée Cystine-Trypticase Agar(CTA). Pour confirmer l'identification de *N. meningitidis*, on utilise une série de 4 tubes dont chacun contient un sucre (glucose, maltose, lactose et saccharose).

N. meningitidis oxyde le glucose et le maltose mais pas le lactose ni le saccharose.

➤ **Etude de la sensibilité [23]**

Les souches épidémiques de *N. meningitidis* sont habituellement sensibles aux antibiotiques suivants : ampicilline, ceftriaxone, chloramphénicol.

II.2. Diagnostic au laboratoire de la dysenterie bacillaire [3, 14, 19, 31, 51]

II.2.1. Recueil et transport des échantillons

Le prélèvement doit être fait de préférence au début ou à la phase aiguë de la maladie avant toute antibiothérapie.

a. Technique de prélèvement

- **Prélèvement de selles** : A partir de matières fécales émises dans un récipient propre, on prélève à l'aide d'une spatule quelques grammes de selles que l'on introduit dans un flacon stérile.

Dans les diarrhées très liquides, le recueil sur papier filtre est possible.
- **Ecouvillonnage rectale** : Il est mieux indiqué chez l'enfant et le nourrisson. On humidifie l'écouvillon dans un milieu de transport stérile puis on l'introduit dans le sphincter rectal sur 2 à 3 cm, tourner et retirer ensuite. Vérifier la trace de matière fécale sur l'écouvillon puis l'insérer immédiatement dans le milieu de transport réfrigéré.

b. Transport au laboratoire

Si le laboratoire est à plus de 2 heures du lieu de prélèvement, il est indispensable d'utiliser un milieu de transport comme le milieu Cary-Blair.

II.2.2. Traitement des échantillons de selles

a. Examen macroscopique

Les selles dysentériques sont généralement glaireuses, sanguinolentes, parfois muco-purulentes. Elles peuvent cependant être pâteuses ou liquides.

b. Examen microscopique

- Examen à l'état frais : Il permet de détecter la présence de polynucléaires, d'hématies, ainsi que la prédominance de bacilles immobiles.
- Examen après coloration de Gram : Il met en évidence la présence d'une flore bactérienne monomorphe à Gram négatif.

c. Culture

On utilise 2 types de milieux d'isolement gélosés :

- Un milieu peu sélectif : Exemple gélose Mac Conkey
- Un milieu plus sélectif : Exemple milieu XLD (Xylose Lysine Desoxycholate) ou Hektoen.

L'utilisation du milieu S.S. (Salmonelle-Shigelle) est déconseillée du fait qu'il inhibe la croissance de *Shigella dysenteriae* 1 qui est la souche épidémique.

Les milieuxensemencés sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

d. Identification préliminaire

Sur gélose Mac Conkey, les colonies de *S. dysenteriae* 1 apparaissent comme des colonies de petite taille, convexes, incolores.

Sur gélose XLD , elles sont lisses et transparentes, de couleur rose ou rouge.

e. Diagnostic de certitude

- Test biochimiques :

- * Gélose Kligler-Hajna : Généralement, shigella produit une pente alcaline (rouge) et un culot acide (jaune) ; il n'y a pas de production de gaz ni de SH₂
- * Mise en évidence de la mobilité : Shigella est toujours immobile
- * Mise en évidence de l'uréase : Shigella est toujours uréase négative.

- Identification immunologique :

Elle est nécessaire pour identifier les souches de shigella. Elle est faite par agglutination sur lame avec des sérums polyvalents anti-antigènes O somatiques suivie dans certains cas de l'agglutination avec un antisérum monovalent pour identifier un sérotype spécifique .

Un antisérum monovalent anti *S. dysenteriae* 1 est nécessaire pour identifier ce sérotype à potentiel épidémique.

f. Sensibilité aux antibiotiques [27, 30, 43, 46]

L'association triméthoprim-sulfaméthoxazole est restée l'antibiotique utilisée en première intention dans le traitement de la dysenterie bacillaire pendant longtemps. D'autres molécules ont été largement employées : ampicilline, chloramphénicol, tétracycline. Cependant, tous ces antibiotiques montrent aujourd'hui une efficacité réduite suite à la résistance développée par les shigelles.

Une multi-résistance à 4 voire 5 antibiotiques est notée au Guatemala [42], en Afrique centrale [31] mais aussi à Dakar [19, 40]. Ce qui conduit à l'utilisation d'autres produits comme l'acide nalidixique et surtout les fluoroquinolones. Il faut cependant noter l'apparition de résistance des shigelles en particulier *Shigella dysenteriae* 1 aux quinolones, médicaments qui étaient encore très efficaces contre ces bactéries [49].

II.3. Diagnostic au laboratoire du choléra [3, 15, 25, 41, 45, 48, 52]

II.3.1. Recueil et transport des échantillons

a. Technique de prélèvement

Les prélèvements doivent être effectués avant la mise en route d'une antibiothérapie.

On peut prélever les selles ou faire un écouvillonnage rectal.

b. Transport au laboratoire

Les prélèvements doivent être envoyés immédiatement au laboratoire s'il se trouve à proximité, sinon, ils doivent être conservés dans un milieu de transport type Cary-Blair ou sur papier buvard imbibé de selles et placé dans un sachet plastique scellé contenant quelques gouttes d'eau physiologique stérile pour maintenir l'humidité.

II.3.2. Traitement des échantillons de selles

a. Examen macroscopique

Les selles sont aqueuses, afécales, incolores, avec quelques grumeaux blanchâtres et d'odeur fade (aspect eau de riz).

b. Examen microscopique

- **A l'état frais :** On observe un aspect monomorphe de la flore bactérienne, quelques macrophages et surtout de nombreux germes mobiles
- **Après coloration de Gram :** *Vibrio cholerae* se présente sous forme de bacille à Gram négatif incurvé en virgule dont la partie médiane est épaisse et les extrémités effilées.

c. Isolement et identification

- **Milieu d'enrichissement** : La méthode d'enrichissement consiste à ensemercer une eau peptonée salée et alcaline avec 1 ml de selle liquide ou 1 ml de milieu de transport. Après 3 à 6 heures de culture à 37°C, on prélève en surface une anse de cette culture pour ensemercer un second tube d'eau peptonée alcaline qui sera isolé après 3 à 6 heures d'étuve sur milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose (T C B S).
- **Isolement sur TCBS** : Le milieu d'enrichissement est repiqué sur TCBS qui est un milieu d'isolement sélectif. Sur ce milieu, au bout de 10 à 18 heures, les colonies sont rondes d'environ 2 mm de diamètre et habituellement jaunes car saccharolytiques.
- **Identification** : Si le germe est un bacille mobile polaire, incurvé , à Gram négatif, saccharose positif, oxydase positif, l'identification doit être poursuivie par une galerie puis par une réaction d'agglutination avec les antisérums O1 et O139.

Si l'on observe une réaction d'agglutination avec l'antisérum O1, on confirmera l'isolement de *Vibrio cholerae* O1 en utilisant les antisérums Inaba et Ogawa. Une réaction positive avec l'un ou l'autre antisérum est suffisant pour confirmer l'isolement de *Vibrio cholerae* O1.

Les colonies suspectes de *V. cholerae* O139 donnant une réaction positive avec l'antisérum O139 sont confirmées par l'étude de la production de l'entérotoxine cholérique et la vérification de l'antigène O139.

d. Techniques de diagnostic rapide

- **L'immunofluorescence**

C'est une technique qui nécessite une concentration élevée de vibrions dans les selles et un sérum spécifique.

- Directe : Elle permet la mise en évidence du vibrion cholérique dans les selles grâce à des immunoglobulines dans un sérum spécifique de lapin.
- Indirecte : Elle utilise sur lame des immunoglobulines fluorescentes anti-lapin, un sérum spécifique anticholérique et un échantillon de selles.

- **Agglutination directe dans les selles**

Après enrichissement et incubation pendant 4 heures à la température ambiante, les selles sont mises en présence de *Staphylococcus aureus* couverts d'antisérums anticholériques ; ce qui entraîne une coagglutination.

e. Etude de la sensibilité [12, 15, 28]

Actuellement, beaucoup de souches de *Vibrio cholerae* sont résistantes aux cyclines et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. Récemment on a suggéré l'utilisation des fluoroquinolones et du tiliquinol-tilbroquinol qui est un antiseptique intestinal.

III. EQUIPEMENT DU LABORATOIRE [8, 10, 39, 44]

III.1. La laverie

III.1. Les appareils

- **L'autoclave** : Il est indispensable à l'équipement d'un laboratoire de bactériologie. Deux autoclaves de 40 cm de diamètre au moins sont nécessaires : l'un pour la préparation des milieux de culture et l'autre pour la désinfection du matériel.
- **Les fours à air chaud** : Il s'agit de four Pasteur, Poupinel.
- **Goupillonneuse électrique** : Elle permet un brossage énergétique de l'intérieur de la verrerie à nettoyer.

III.1.2. Le matériel

- De grands sacs à déchets en polyéthylène permettant de rassembler les objets utilisés.
- Un panier d'égouttage perforé dans lequel on dispose le matériel à laver.
- Un bac de trempage dans lequel on trempe le panier d'égouttage.
- Un panier de rinçage à siphon pour le nettoyage des pipettes.
- Des solutions de détergeant.

III.2. La salle de préparation

III.2.1. Les appareils

- Réfrigérateurs : Ils sont indispensables à la conservation des milieux et des réactifs fragiles et, est conseillé en cas de stockage prolongé.
- Appareil producteur d'eau distillée.

III.2.2. Le matériel

- Placards de rangement : Plusieurs placards doivent être prévus pour ranger et classer les différents produits utilisés pour la préparation des milieux de culture et des réactifs.
- Matériel de chimie tels que : Verrerie courante, Verrerie graduée, Balance de précision...
- Verrerie spéciale : tubes à essai, flacon à vis, boîtes de Petri, ballon à fond plat...
- Accessoires divers tels que : Bec Bunsen, Matériel de protection...
- Verrerie pour la répartition des milieux : Elle doit être solide, résistante aux variations de températures, de faible alcalinité, non teintée et exempte de stries et de bulles.

III.3. Le laboratoire proprement dit

III.3.1. Les appareils

- Etuves
- Centrifugeurs
- Appareils pour bain-marie
- Réfrigérateurs

III.3.2. Matériels

Les paillasses doivent être pourvues au minimum de :

- Bec Bunsen ou bec Mecker qui assure l'asepsie locale.
- Portoir sur lequel sont rangés les milieux à étudier et à ensemenecer.
- Pipettes Pasteur et baguettes stériles
- Fils à ensemenecer
- Récipients divers destinés à recueillir le matériel usagé :

- * Bocal à large ouverture rempli d'eau de Javel pour immerger les pipettes et autres matériels souillés.
- * Panier métallique pour les milieux de culture déjà utilisés devant être autoclavés.
- * Boîte pour les déchets non contaminés
- Bac à coloration et support lame
- Batteries de colorants
- Boîtes pour le rangement des préparations colorées
- Lames porte-objets et lamelles
- Matériel de protection lors des manipulations dangereuses : masque de gaze, lunettes de protection, gants, poires d'aspiration.
- Microscope optique
- Jarres anaérobies et à CO₂
- Distributeurs de disques d'antibiotiques
- Sièges : Il s'agit de tabourets tournants réglables en hauteur munis d'un repose-pied et d'un dossier. Ils doivent être faciles à nettoyer et à désinfecter.

III.4. La salle de prélèvement

III.4.1. Prélèvement vaginal

La salle doit disposer de :

- Porte-manteau
- Tabouret
- Table gynécologique
- Armoire pour stocker le matériel
- Scialytique muni d'une ampoule à halogène

- Spéculums stériles de taille différente et écouvillons stériles

III.4.2. Autres prélèvements

- Aiguilles stériles à usage unique
- Seringues à usage unique
- Trocarts et aiguilles à ponction
- Lancettes à usage unique pour prélèvement de sang capillaire
- Abaisse-langues
- Ecouvillons stériles
- Pots pour prélèvement de selles et bocal à urines
- Sondes plastiques à usage unique pour les prélèvements d'urine chez les jeunes enfants.
- Curettes ophtalmiques stériles

III.5. Le secrétariat

- Ordinateur
- Imprimante
- Matériel de bureau.

CHAPITRE 2 : LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE [4, 17, 33, 38, 47, 57]

I. DEFINITION

I.1. Epidémie

Selon l'OMS une épidémie se définit par « l'apparition d'un nombre de cas de maladie inhabituellement importants ou inattendus pour une période et un lieu donnés ».

I.2. Surveillance épidémiologique

Selon le CDC (Center for Disease Control) la surveillance épidémiologique est un « processus continu et systématique de collecte, d'analyse et d'interprétation des informations sur la santé. Elle constitue un outil essentiel pour la planification, l'exécution et l'évaluation des politiques de santé et comprend la communication régulière de ces données à ceux qui en ont besoin. Le dernier maillon de la chaîne de surveillance est l'utilisation de ces informations pour la prévention et le contrôle des maladies ».

II. OBJECTIFS DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

Les objectifs de la surveillance épidémiologique peuvent être formulés comme suit :

- Détecter les situations urgentes c'est à dire la survenue ou l'accroissement du risque d'une épidémie.
- Identifier les nouveaux problèmes : tels que l'apparition des souches résistantes aux antibiotiques usuels.
- Contribuer à l'identification des besoins sanitaires.
- Cibler l'action des programmes d'intervention vers les groupes à risque dans les zones géographiques les plus vulnérables et à la période opportune.

- Evaluer l'impact d'un programme de santé ou d'une stratégie de lutte en comparant les situations avant et après la mise en œuvre du plan d'action.
- Améliorer la compréhension des modes de transmission et de survenue des maladies ainsi que la connaissance des agents causaux, des vecteurs, des réservoirs animaux.
- Identifier de nouveaux axes de recherches épidémiologiques.

III. ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

La structure globale de la surveillance épidémiologique est composée de 3 piliers fondamentaux :

- Une unité de collecte des informations relatives à l'état de santé de la population. Les informateurs du système de santé sont les médecins praticiens, les biologistes et les populations
- Une unité d'analyse et d'interprétation des données dont le responsable doit avoir une formation minimale en épidémiologie et en bio-statistique.
- Une unité de prise de décision.

IV. METHODOLOGIE DE LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

La méthodologie opérationnelle de la surveillance épidémiologique repose sur les étapes successives et complémentaires suivantes :

IV.1. Collecte de l'information

IV.1.1. Enregistrement des données

Il est effectué par les différents acteurs de soins de santé et consiste en un relevé de données sur les maladies cibles d'une surveillance épidémiologique. Ces données intéressent les caractéristiques des personnes atteintes (âge, sexe), du temps (date, horaire) et d'espace (adresse). Cette information est enregistrée sur des supports appropriés tel que le relevé épidémiologique.

IV.1.2. Déclaration de l'information enregistrée

Les praticiens sont chargés de la déclaration de l'occurrence des cas. La déclaration se fait toujours d'une unité de collecte de données vers une unité d'analyse qui est hiérarchiquement supérieure :

- Soit d'un centre de santé de base vers l'équipe cadre de la circonscription sanitaire.
- Soit d'une circonscription sanitaire vers l'unité épidémiologique de la région sanitaire.
- Soit d'une région sanitaire vers le ministère de la santé.

Les moyens de transmission utilisés sont adaptés au type de surveillance : courrier, téléphone, réseau télématique...

IV.2. Analyse de l'information

IV.2.1. La validation des données

Elle consiste en la vérification de l'exactitude de l'information. Ceci permet d'éviter 2 problèmes opérationnels largement répandus :

- La sous-estimation qui résulte le plus souvent des données manquantes et qui peut entraîner l'incapacité du système de surveillance épidémiologique à détecter une épidémie.
- La surestimation de l'ampleur d'une maladie qui peut résulter soit d'une erreur de diagnostic soit d'une erreur de transcription engendre quant à elle le déclenchement inutile d'une fausse alerte.

IV.2.2. Synthèse des données

Après validation de l'information reçue, l'unité d'analyse prépare une synthèse de la situation épidémiologique à travers une compilation des données.

IV.3. Interprétation des données

IV.3.1. Etude descriptive

L'importance de l'étude descriptive des données consiste à déterminer :

- Un groupe à risque
- Un zone à risque
- Une période à risque

IV.3.2. La comparaison

Les valeurs observées sont comparées aux valeurs attendues dans la même période. L'augmentation significative du nombre de cas enregistrés témoigne de l'installation d'une épidémie.

Afin d'éviter le déclenchement inutile de procédure d'alerte, les épidémiologistes ont établi des « seuils d'alerte » qui permettent non seulement de détecter précocement l'installation d'une épidémie mais aussi d'apprécier la fin d'une épisode épidémique.

IV.4. Diffusion de l'information

IV.4.1. Information des décideurs

La surveillance épidémiologique fournit des éléments d'information qui doivent être diffusés aux décideurs pour planifier une éventuelle stratégie d'intervention.

IV.4.2. Rétro information des opérateurs

La diffusion de l'information se fait d'une part vers les décideurs pour planifier un plan de riposte et d'autre part vers les professionnels du terrain sous la forme d'un document de synthèse : le bulletin de rétro information.

IV. QUALITES DU SYSTEME DE SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

V.1. Capacité d'identification des cas

Elle dépend de 3 paramètres qui sont :

- La standardisation de diagnostic :

Une définition standardisée d'un cas évite la confusion et l'ambiguïté. Elle doit reposer sur des éléments anamnestiques, cliniques et para cliniques adaptés aux compétences techniques des agents de santé et aux moyens diagnostiques disponibles dans les services de santé.

- La sensibilité et la spécificité

La sensibilité d'un système de surveillance est sa capacité à détecter les épidémies.

La spécificité est évaluée indirectement par le nombre de patients identifiés par le système alors qu'ils sont indemnes (faux positifs).

V.2. Faisabilité

Elle dépend de la simplicité et de l'acceptabilité du système de surveillance épidémiologique.

- La simplicité : Un système simple est un système facile à comprendre, facile à mettre en place et facile à gérer. Elle est fonction du nombre de maladies sous surveillance, des variables à collecter et des supports utilisés ainsi que de la longueur du cheminement de l'information.
- L'acceptabilité : Elle signifie le degré de motivation du personnel impliqué dans le processus de surveillance épidémiologique qui doit être aussi accepté par les personnes participant à cette surveillance.

V.3. Pertinence

Un système de surveillance épidémiologique est pertinent s'il est utile et utilisable.

- L'utilité : Elle se mesure soit en terme d'applications concrètes en politique de santé soit en terme d'une meilleure compréhension des phénomènes de santé.
- L'utilisation : La surveillance épidémiologique apporte des informations utiles pour la planification, la gestion des services de santé, l'évaluation des programmes de santé.

V.4. La souplesse

C'est la capacité du système à s'adapter à de nouvelles circonstances. En effet certaines données perdent leur pertinence au cours des années alors que d'autres doivent s'ajouter au système de surveillance.

V.5. La représentativité

Un système de surveillance est représentatif s'il décrit correctement la survenue d'un phénomène de santé au cours du temps ainsi que sa distribution dans la population en terme de lieu et de caractéristiques individuelles.

V.6. La régularité

Elle intéresse aussi bien la collecte des données que la rétro information. Elle se manifeste par des rapports périodiques.

V.7. La ponctualité

Elle fait référence à la rapidité de l'information. Elle dépend surtout du circuit d'acheminement de l'information et conditionne la rapidité de la décision et des mesures de prévention.

DEUXIEME
PARTIE :
TRAVAIL
PERSONNEL

III. CADRE D'ETUDE ET PERIODE D'ETUDE

I.1. Cadre d'étude

Il s'agit d'une enquête nationale qui a été réalisée sur l'étendue du territoire dans 80 laboratoires essentiellement du secteur public.

I.2. Période d'étude

L'enquête a été réalisée du 04 au 23 août 2003.

IV. MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériels

- Un questionnaire a été élaboré par une équipe de biologistes et de techniciens de laboratoire prenant en compte les différentes disciplines biologiques.

Le questionnaire administré, qui était long de 31 pages, comprenait plusieurs chapitres se présentant comme suit :

1. Identification de l'enquêteur, de la personne interrogée et du laboratoire (nom, localité, niveau, type de laboratoire et la structure qui l'héberge).
2. Fonctionnement du laboratoire : jours et heures de travail, permanences et gardes, enregistrement des résultats, compte rendu des résultats, sécurité au laboratoire, structuration, mode de prélèvement, plateau technique.
3. Ressources humaines : catégorie et nombre de personnel, formation continue, nature des formations reçues, existence de guides (procédures, biosécurité).
4. Assurance qualité : procédures écrites, étiquetage et contrôle des réactifs, fonctionnement et suivi des équipements, disponibilité de l'eau, de l'électricité, du gaz, de groupe électrogène, d'air conditionné..., contrôle de qualité interne, évaluation externe, supervision.

5. Gestion : Fiches de stock, rupture de stock, cahier d'inventaire, registre de compte rendu des résultats.
 6. Notification : déclaration de maladies sous surveillance, rapport sur les germes à potentiel épidémique et sur leur sensibilité, rythme des notifications.
 7. Ressources financières : sources de financement, rapport recouvrement sur budget de l'Etat.
 8. Equipement, réactifs, matériels consommables, activités : listing et état des équipements sur place, réactifs et consommables disponibles par disciplines, types et volume des activités menées dans le laboratoire.
 9. Commentaires additionnels : des responsables interrogés et des enquêteurs.
- Le logiciel Epi-info 6.0 a été utilisé pour le traitement des données.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'enquête

Une fois le questionnaire établi, une session de validation a été organisée au mois de juillet 2003 en présence de responsables de laboratoires et des enquêteurs.

La validation a été suivie de la formation des enquêteurs, avec présentation de la fiche corrigée et des équipes, une formation sur le déroulement de l'enquête, le remplissage du questionnaire, les vérifications à faire.

II.2.2. Organisation de l'enquête

Six équipes d'enquêteurs ont été formées pour enquêter dans les structures se trouvant dans les régions suivantes :

Equipe 1 : Tambacounda, Kolda, Ziguinchor

Equipe 2 : Louga, Saint-Louis, Matam

Equipe 3 : Diourbel, Kaolack, Fatick

Equipe 4 : Thiès

Equipe 5 : Dakar (centres de santé des 9 districts)

Equipe 6 : Dakar (hôpitaux nationaux, laboratoires de référence)

Chaque équipe était constituée de deux enquêteurs venus de Dakar complétés dans chaque région par un ou deux responsables de laboratoires régionaux.

II.2.3. Déroulement de l'enquête

Il s'agissait de réaliser des interviews et le questionnaire était rempli au fur et à mesure par un des enquêteurs. Une relecture devait être effectuée sur place pour vérifier d'éventuels oublis.

La réponse à certaines questions devait être acceptée uniquement après vérifications sur pièce.

Les questionnaires remplis et vérifiés ont été acheminés à Dakar où une équipe d'informaticiens a procédé à leur saisie sur un masque pré-établi (Epi-info 6.0).

Un plan d'exploitation a ensuite été rédigé pour obtenir les résultats globaux, les résultats par niveau et par région.

Dans ce travail seront présentés les résultats globaux préliminaires, l'exploitation par région et par niveau étant en cours.

V. RESULTATS

III.1. Données générales

Au total 80 laboratoires ont été enquêtés, essentiellement du secteur public et ainsi répartis :

III.1.1. Répartition par niveau

Tableau I : Répartition des laboratoires enquêtés en fonction de leur niveau

Niveau	Fréquence	Pourcentage
Périphérique (district)	51	63,75%
Intermédiaire (Régional)	12	15%
National (H.N, L.Ref)	17	21,25%
Total	80	100%

H.N : Hôpital National

L.Ref : Laboratoires de Référence

III.1.2. Répartition par Région

Tableau II : Répartition des laboratoires par niveau et par région

Régions	Labo District	Labo régionaux	Labo nationaux
Dakar	9 (17,65%)	0	16 (94,12%)
Diourbel	4 (7,85%)	1 (8,33%)	0
Fatick	5 (9,80%)	0	0
Kolda	3 (5,88%)	1 (8,33%)	0
Kaolack	4 (7,85%)	2 (16,67%)	0
Louga	5 (9,80%)	1 (8,33%)	0
Matam	1 (1,96%)	2 (16,67%)	0
Saint-Louis	5 (9,80%)	2 (16,67%)	0
Tambacounda	3 (5,88%)	1 (8,33%)	0
Thiès	9 (17,65%)	1 (8,33%)	1 (5,88%)
Ziguinchor	3 (5,88%)	1 (8,33%)	0
Totaux	51(63,75%)	12 (15%)	17(21,25%)

III.2. FONCTIONNEMENT

III.2.1. Supports

Soixante dix huit (78) laboratoires disposent de registre comme support d'enregistrement soit 97,5%.

Par contre, seuls 16 laboratoires (20%) sont outillés en support informatique : 3 au niveau périphérique, 3 au niveau régional et 10 au niveau national.

III.2.2. Locaux

Trente quatre (34) laboratoires soit 43,6% disposent d'une salle de prélèvement et 21 laboratoires, soit 26,9% ont une salle de stérilisation.

Les toilettes pour patients existent pour 37 laboratoires, soit 47,4% et les toilettes pour personnel dans 43 laboratoires, soit 55,1%.

Une salle d'attente existe dans 25 laboratoires (32,1%) et des vestiaires pour le personnel dans 18 laboratoires (23,1%).

III.2.3. Sécurité au laboratoire

Le personnel du laboratoire connaît les risques inhérents au travail dans 75 laboratoires (93,75%) mais l'information sur la sécurité n'est donnée régulièrement que dans 22 laboratoires (37,5%). Par ailleurs le pipetage à la bouche est toujours en cours dans 15 laboratoires (18,75%), dont 11 laboratoires de district, 3 régionaux et 1 national.

Le port de gants est systématique dans 45 laboratoires (56,25%) et n'est jamais effectué dans 2 laboratoires de district (2,5%).

Les déchets sont triés dans 40 laboratoires (50%) et la décontamination n'est effectuée que dans 9 laboratoires (11,25%).

L'élimination des déchets par incinération est possible dans 6 laboratoires (7,5%) tous de niveau national.

III.2.4. Plateau technique

Tableau III : Plateau technique disponible par niveau

Disciplines	Labo District	Labo Régionaux	Labo Nationaux
Anatomie Pathol.	03 (5,88%)	00	01 (5,9%)
Bactériologie	24 (47%)	12 (100%)	08 (47%)
Biochimie	38 (74,5%)	12 (100%)	07 (41,18%)
Hématologie	43 (84,31%)	12 (100%)	06 (35,29%)
Mycologie	01 (1,96%)	01 (8,33%)	06 (35,29%)
Parasitologie	46 (90,19%)	12 (100%)	06 (35,29%)
Séro-Immunologie	39 (76,47%)	12 (100%)	11 (64,7%)
Virologie	05 (9,80%)	06 (50%)	06 (35,29%)

III.3. Ressources humaines

III.3.1. Types de personnels

Ce tableau résume le nombre de laboratoires disposant de personnel de différentes catégories

Tableau IV : Répartition du personnel du laboratoire par catégorie

Personnels	Labo District	Labo Régionaux	Labo Nationaux
Médecins biologistes	00	00	08
Pharmaciens biologistes	01	06 (50%)	14
Biologistes scientifiques	01	00	01
Pharmaciens	07	05 (41,7%)	12
Ingénieurs AB	00	00	02
Techniciens supérieur en AB	18 (35,3%)	08 (66,7%)	15
Techniciens de Labo	23	09	12
Secrétaires médicales	02	03	12
Aides	24	10	11

III.3.2. Formation reçues par les personnels

Ce tableau résume les différents domaines auxquels le personnel à été formé

Tableau V : Formations reçues par le personnel du laboratoire

Formations	Labo District	Labo Régionaux	Labo Nationaux
Confirmation des épidémies	11 (21,6%)	06 (50%)	03
Epidémiologie	07 (13,7%)	06 (50%)	05 (29,4%)
Bio sécurité	05 (9,8%)	04 (33,33%)	08 (47,05%)
Informatique	05 (9,8%)	06 (50%)	12 (70,59%)
Assurance qualité	01 (1,97%)	01 (8,33%)	10 (58,82%)
Total labo enquêtés	51	12	17

III.3.3. Disponibilité de manuels et de guides

Tableau VI : Disponibilité de manuels de procédures et de biosécurité dans les laboratoires

Manuels	Labo District	Labo Régionaux	Labo Nationaux
Procédures	22 (43,14%)	10 (83,33%)	10 (58,82%)
Bio sécurité	03 (5,88%)	03 (25%)	02 (11,76%)
Total Labo enquêtés	51	12	17

III.4. Contrôles de qualité / évaluation externe / système de référence

III.4.1. Contrôle de qualité interne

Le nombre de laboratoires affirmant procéder à un contrôle de qualité interne avec des procédures écrites est de 13 au niveau périphérique (25,5%), 10 au niveau régional (58,8%) et 07 au niveau national (41,18%).

III.4.2. Contrôle des équipements et réactifs

Le fonctionnement des équipements de laboratoire est vérifié de manière continue dans 02 laboratoires de district (3,92%), 01 laboratoire régional (8,33%) et 15 laboratoires nationaux (82,23%).

Les réactifs sont étiquetés et contrôlés dans 38 laboratoires de district (74,5%), 12 laboratoires régionaux (100%) et 14 laboratoires nationaux (82,35%).

III.4.3. Maintenance des équipements

La maintenance des équipements de laboratoire est assurée dans 01 laboratoire de district (1,96%), 01 laboratoire régional (8,33%) et 05 laboratoires nationaux (29,4%).

III.4.4. Evaluation externe

Elle est effectuée dans 20 laboratoires de district, 06 laboratoires régionaux (PNT) et 11 laboratoires nationaux.

III.4.5. Supervision

La supervision par le niveau supérieur a été effectuée dans 24 laboratoires de district (47,05%) contre 06 au niveau régional (50%) et 02 au niveau national (11,76%).

Un seul laboratoire, de niveau régional, a été supervisé au moins une fois en 2002.

III.4.6. Participation à un système de contrôle de qualité

49 laboratoires de district (96,07%) désirent participer à un système de contrôle de qualité externe, de même que 12 laboratoires régionaux (100%) et 15 laboratoires nationaux (88,23%).

III.4.7. Commodités

Le tableau suivant montre le nombre de laboratoires disposant de facilités telles que l'eau courante, l'électricité...

Tableau VII : Commodité dans les laboratoires

Disponibilité en	Labo District	Labo régionaux	Labo nationaux
Electricité	49 (96,07%)	12 (100%)	17 (100%)
Eau courante	48 (94,11%)	12 (100%)	17 (100%)
Air conditionné	21 (41,17%)	08 (66,7%)	17 (100%)
Gaz	21 (41,17%)	12 (100%)	15 (88,23%)
Groupe électrogène	14 (27,41%)	10 (83,33%)	8 (47,05%)
Connexion Internet	01 (1,96%)	02 (16,7%)	8 (47,05%)
Energie solaire	01 (1,96%)	01	00
Total labo enquêtés	51	12	17

III.4.8. Système de référence

Les milieux de transport pour les selles sont disponibles dans 01 laboratoire de district et 01 laboratoire de niveau national.

Les milieux de transport pour le LCR sont disponibles dans 01 laboratoire de district, 01 laboratoire régional et 02 laboratoires de niveau national.

Les laboratoires ayant envoyé des échantillons en référence sont au nombre de 36 au niveau périphérique, 09 au niveau régional et 09 au niveau national.

III.5. Gestion des stocks

L'existence d'un système régulier de gestion des stocks a été constatée dans 04 laboratoires régionaux et 11 laboratoires nationaux.

En 2002, des ruptures de stocks ont été notées dans 18 laboratoires de district, 11 laboratoires régionaux et 12 laboratoires nationaux.

III.6. Notifications

III.6.1. Déclarations de maladies sous surveillance

Elle a été effectuée par 28 laboratoires de district, 08 laboratoires régionaux et 04 laboratoires nationaux.

III.6.2. Rapport sur les germes à potentiel épidémique.

Il est établi par 04 laboratoires de district, 03 laboratoires régionaux et 04 laboratoires nationaux.

III.6.3. Rapport sur la sensibilité des germes

Seuls 01 laboratoire régional et 04 laboratoires nationaux affirment rédiger un tel rapport.

IV. ANALYSES ET COMMENTAIRES

D'après les résultats issus de l'enquête nationale, nous pouvons noter un certain nombre d'acquis mais également des insuffisances

IV.1. Les acquis

IV.1.1. Existence de laboratoires

Les structures de diagnostic existent partout au Sénégal : 80 laboratoires ont été recensés.

Sur les 52 districts sanitaires, seul Kafrine n'a pas de laboratoire. Au niveau régional, seule la région de Fatick ne dispose pas encore de laboratoire de niveau régional, celui de l'hôpital étant en construction, alors qu'à Dakar nous avons des laboratoires de niveau national à la place des laboratoires régionaux.

IV.1.2. Fonctionnement

On note l'existence de registres comme support dans 78 laboratoires soit plus de 97% des structures.

IV.1.3. Sécurité au laboratoire

Le personnel de laboratoire connaît les risques inhérents au travail dans 93,75% des laboratoires.

IV.1.4. Plateau technique disponible

Les analyses bactériologiques sont effectuées dans tous les laboratoires de niveau régional et en moyenne dans la moitié des laboratoires de district.

Il en est de même pour les autres disciplines telles que : l'Hématologie, la Parasitologie, la Biochimie et la Séro-Immunologie

IV.1.5. Evaluation externe

La quasi-totalité des responsables interrogés désire participer à un système de contrôle de qualité.

IV.1.6. Commodités

L'eau et l'électricité sont retrouvées dans au moins 94% des laboratoires de district et dans tous les laboratoires régionaux.

IV.1.7. Formations reçues par le personnel

Les programmes les plus performants en matière de formation sont :

- Le programme de lutte contre la tuberculose : 88,23% des laboratoires de district et tous les laboratoires de niveau régional.
- La sécurité transfusionnelle : 75% des laboratoires régionaux.
- La bilharziose : 47% des laboratoires de district et 75% des laboratoires régionaux.
- Le diagnostic des infections à VIH : 31,37% des laboratoires de district et 91,7% des laboratoires régionaux.

IV.2. Les insuffisances

IV.2.1. Fonctionnement

Si la quasi totalité des laboratoires dispose de registres comme support, l'informatique y est encore très rare : seuls 16 laboratoires bénéficient de l'outil informatique, dont 10 de niveau national.

IV.2.2. Les locaux

Les laboratoires sont en général mal organisés du point de vue de la disposition spatiale : moins de la moitié (42,5%) a aménagé une salle de prélèvement et seul le quart environ (26%) dispose d'une salle de stérilisation.

IV.2.3. La sécurité au laboratoire

Si dans plus de 93% des laboratoires le personnel déclare connaître les risques inhérents au travail, l'information sur la sécurité n'est donnée régulièrement que dans 22 laboratoires et le pipetage à la bouche est toujours constaté dans 15 laboratoires.

Le tri des déchets n'est effectué que dans 40 laboratoires et la décontamination n'est effectuée que dans 9 laboratoires.

L'incinération n'est possible que dans 6 laboratoires de niveau national.

IV.2.4. Les ressources humaines

Le personnel requis n'est pas disponible dans les laboratoires, aucun médecin biologiste dans les laboratoires périphériques et intermédiaires, les pharmaciens biologistes sont retrouvés seulement dans la moitié des laboratoires de niveau régional, les pharmaciens non spécialistes dans 05 laboratoires régionaux et les techniciens supérieurs dans 23 laboratoires de district et dans 08 laboratoires régionaux.

IV.2.5. Formations reçues par le personnel

Peu de laboratoires ont bénéficié de formations continues dans les domaines suivants :

- Assurance qualité : 1 laboratoire de district, 1 laboratoire régional, 10 laboratoires nationaux.
- Informatique : 5 laboratoires de district, 6 laboratoires régionaux, 12 laboratoires nationaux.
- Biosécurité : 5 laboratoires de district, 4 laboratoires régionaux, 8 laboratoires nationaux.
- Epidémiologie : 7 laboratoires de district, 6 laboratoires régionaux, 5 laboratoires nationaux.

IV.2.6. Disponibilité de manuels et de guides

Les manuels de procédures sont retrouvés seulement dans 52% des laboratoires.

Les manuels de Biosécurité sont rares et retrouvés dans 8 laboratoires sur 80 (10%).

IV.2.7. Assurance qualité

Le contrôle de qualité interne n'est réalisé que dans 13 laboratoires au niveau périphérique (25,5%), 10 au niveau régional (58,8%) et 07 au niveau national (41,18%).

L'évaluation externe est effectuée dans 20 laboratoires de district (39,2%) et 06 laboratoires régionaux (50%), essentiellement par le PNT.

Aux niveaux périphérique et intermédiaire, le fonctionnement des équipements est vérifié de manière continue dans très peu de laboratoires (02 de district et 01 régional). Le constat est le même pour la maintenance.

IV.2.8. Supervision

Elle est très rarement effectuée : en 2002, un seul laboratoire de niveau régional, a été supervisé au moins une fois.

IV.2.9. Commodités

Il n'existe pas de groupe électrogène dans toutes les structures hébergeant les laboratoires et seuls 5% des laboratoires sont connectés sur internet.

IV.2.10. Participation à la surveillance épidémiologique

Les milieux de transport pour les selles et le LCR ne sont pas disponibles dans les laboratoires, tous niveaux confondus.

Les rapports sur les germes à potentiel épidémique et la résistance aux antibactériens sont exceptionnels dans les laboratoires.

V. DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS

L'analyse des résultats de l'enquête nationale sur les laboratoires nous permet dans un premier temps de faire l'état des lieux des laboratoires d'analyse publics au Sénégal, d'apprécier leur capacité à faire face à une épidémie puis dans un second temps de formuler des recommandations.

V.1. Données générales

On constate que la majorité des laboratoires, en particulier les laboratoires nationaux sont concentrés à Dakar (94,12%). Par contre il n'existe pas de laboratoires de niveau régional. En effet les laboratoires nationaux sont en mesure de palier à ce déficit puisque étant de niveau supérieur. Toutefois on peut magnifier le fait que chaque région dispose au moins d'un centre de diagnostic, ce qui est important pour une bonne surveillance des germes à potentiel épidémique.

V.2. Fonctionnement

V.2.1. Supports

Les registres d'analyse existent dans presque tous les laboratoires enquêtés. Cependant, aujourd'hui où nous sommes à l'ère de l'informatique, nous avons noté la rareté du support informatique dans les laboratoires. Ceci peut avoir des répercussions dans leur fonctionnement :

- perte de certaines données importantes notamment pour la surveillance épidémiologique consignées dans les registres faute de salle d'archives,
- des difficultés dans leur dépouillement pour établir des rapports sur les germes [24]. En effet, l'utilisation de moyens informatiques dans les laboratoires est importante car elle permet d'obtenir facilement la liste des bactéries transmissibles isolées pendant une période donnée mais aussi de surveiller de près les résistances bactériennes aux antibiotiques [10].

L'absence d'ordinateurs pourrait expliquer le faible taux de connexion sur Internet au niveau des laboratoires.

V.2.2. Locaux

On a noté l'absence de salle de prélèvement et de salle de stérilisation dans presque la moitié des laboratoires. Ceci est valable également pour les salles d'attente et les toilettes pour patients. Or les laboratoires médicaux doivent posséder des salles destinées à la réception des malades et une salle de prélèvements indépendante. Dans le cas du laboratoire de bactériologie, les locaux doivent comprendre :

- Les services administratifs : direction technique, secrétariat, salle des archives.
- Les pièces de servitude : salle d'attente, salle de prélèvement, salle de stérilisation, salle de préparation ... [44].

Les toilettes pour personnel existent dans plus de la moitié des laboratoires, par contre les vestiaires sont encore rares. Ceci peut avoir des conséquences sur la santé publique notamment l'augmentation du risque de contamination des vêtements. Ces vestiaires doivent donc exister et être situés à l'extérieur du laboratoire : les vêtements de ville et les blouses doivent s'y trouver nettement séparés. [44]

V.2.3. Sécurité au laboratoire

Le personnel de laboratoire connaît les risques liés au travail, cependant l'information sur la sécurité n'est pas régulièrement donnée. Pourtant les risques encourus sont très faibles si les consignes de sécurité sont respectées. [44]

Si le port de gants est systématique dans plus de la moitié des laboratoires enquêtés, le pipetage à la bouche, toujours en cours dans certains laboratoires, constitue un problème majeur pour la sécurité du personnel qui le pratique. Ainsi, pour limiter le risque de contamination du personnel par les agents pathogènes, certaines recommandations doivent être respectées parmi lesquelles le fait de proscrire le pipetage buccal. [14]

Le tri des déchets est pratiqué dans la moitié des laboratoires enquêtés. Par contre aussi bien la décontamination que l'incinération sont très peu pratiquées. Or les déchets issus des laboratoires en particulier ceux de bactériologie sont considérés comme des produits dangereux qui doivent être incinérés. On ne peut en aucun cas les éliminer sans traitement avec les ordures ménagères. [9]

V.2.4. Plateau technique bactériologique

Tous les laboratoires régionaux disposent d'un plateau technique bactériologique, ce qui est important en particulier pour la surveillance épidémiologique. En effet le laboratoire de bactériologie constitue en cas d'épidémie causée par des agents bactériens la seule structure capable :

- d'identifier l'agent causal,
- d'établir sa sensibilité aux antibactériens,
- de définir l'ampleur et la durée de l'épidémie.

Pour cela, il joue un rôle capital dans la détection et le contrôle des épidémies [14]. Il reste cependant à les équiper correctement et à les doter d'un personnel qualifié pour permettre un bon diagnostic des maladies en particulier celles à potentiel épidémique.

V.3. Ressources humaines

V.3.1. Le personnel

Le personnel qualifié est concentré dans les laboratoires nationaux, pratiquement tous à Dakar, alors que techniciens de laboratoires et aides constituent l'essentiel du personnel des laboratoires de district et des laboratoires régionaux.

L'évolution des épidémies, la protection de la santé publique dépendent, à chaque circonstance, du soin que le personnel apportera à l'exécution des manipulations qui leur sont confiées [8].

Un personnel qualifié est indispensable aussi bien pour les bonnes pratiques de laboratoire que pour une interprétation objective des résultats obtenus.

Ainsi, chaque laboratoire de niveau périphérique devrait être dirigé par un technicien supérieur de laboratoire et doté d'au moins de deux techniciens de laboratoire [24].

V.3.2. Formation reçues par le personnel

A l'exception de la formation en assurance qualité et en informatique où les laboratoires nationaux sont les plus impliqués, les laboratoires régionaux occupent une bonne place dans les domaines suivants : confirmation des épidémies, épidémiologie et Biosécurité, ce qui est un atout pour la surveillance épidémiologique quand on sait que chaque région abrite un laboratoire régional excepté Dakar qui a des laboratoires de niveau national. Cependant, un effort devrait être fait pour élargir la formation en assurance qualité à tous les laboratoires sans distinction de niveau, vu son importance sur les prestations du laboratoire.

V.3.3. Disponibilité de manuels et guides

Les manuels et guides de procédures sont disponibles dans la majorité des laboratoires régionaux et nationaux, et dans une moindre mesure dans les laboratoires de district. Par contre ceux de Biosécurité font presque défaut. Ce fait peut expliquer le caractère irrégulier de l'information sur la sécurité constaté dans la majorité des laboratoires enquêtés. Les laboratoires doivent disposer de manuels avec les rubriques suivantes :

- Nettoyage du plan de travail et hygiène personnelle,
- Mesures de sécurité,
- Manipulation et élimination du matériel infecté,
- Entretien du matériel,
- Prélèvements : enregistrement, traitement, élimination
- Enregistrement des résultats et leur transmission [55].

V.4. Contrôle de qualité - évaluation externe - système de référence

V.4.1. Contrôle de la qualité

Il est pratiqué uniquement par la moitié des laboratoires de niveau national ; pour les niveaux périphérique et régional, il reste encore faible. En effet, le contrôle de la qualité dans les laboratoires revêt un triple intérêt :

- Eliminer les incompétences
- Le maintien d'une bonne qualité
- L'amélioration de cette qualité [56]

Ainsi chaque laboratoire doit disposer d'un programme de vérification de la qualité de ces propres tests depuis les prélèvements jusqu'au rapport définitif [55].

V.4.2. Contrôle des équipements et des réactifs

L'étiquetage et le contrôle des réactifs sont effectués dans nos laboratoires tous niveaux confondus, de manière satisfaisante. Par contre le fonctionnement des équipements n'est vérifié continuellement que dans les laboratoires nationaux.

Ce constat est inquiétant quand on sait que la plupart des laboratoires sont sous-équipés, qu'en sera-t-il alors lorsqu'ils seront mieux équipés ? La maîtrise de la qualité dans nos laboratoires passera forcément par une vérification quotidienne du fonctionnement des équipements.

V.4.3. Maintenance des équipements

Elle est médiocre aux niveaux périphérique et régional, insuffisant au niveau des laboratoires nationaux.

Dans les pays en voie de développement, la maintenance des équipements constitue un problème majeur. En effet la performance des équipements ainsi que leur durée de vie est intimement liées à leur maintenance. Ainsi cette absence de maintenance combinée à l'absence de nouvelles acquisitions expliquerait le caractère sous-équipé de la plupart des laboratoires.

V.4.4. Evaluation externe

Elle est effectuée en moyenne dans la moitié des laboratoires régionaux et nationaux mais reste faible encore dans les laboratoires de district. Il s'agit d'un contrôle des résultats du laboratoire par un organisme extérieur. L'évaluation de qualité comprend :

- la surveillance périodique de la qualité des tests,
- la vérification personnelle des tests d'identification et des techniques d'isolement [55].

V.4.5. Supervision

Elle est rarement effectuée surtout dans les laboratoires nationaux. Au niveau régional, un seul laboratoire affirme avoir été supervisé au moins une fois en 2002. Ce qui est confirmé par KANE S. B. [34]. Les supervisions par le niveau hiérarchiquement supérieur doivent s'effectuer régulièrement et faire l'objet d'un rapport écrit avec rétro-information à l'échelon inférieur.

V.4.6. Participation à un système de contrôle de qualité

La quasi totalité des responsables de laboratoires enquêtés désire participer à un système de contrôle de qualité externe. Si cet engouement unanimement exprimé se traduisait en acte concret, on aboutirait à coup sûr à un relèvement du niveau de la qualité de nos laboratoires sur toute l'étendue du territoire.

V.4.7. Commodités

L'électricité, le gaz et l'eau courante sont disponibles pratiquement dans tous les laboratoires.

La disponibilité de l'air conditionné est variable et fonction des niveaux. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il n'est pas couramment utilisé dans tous les laboratoires. Par contre les groupes électrogènes sont insuffisants si l'on comprend la nécessité de l'électricité dans la plupart des laboratoires et les délestages intempestifs de la SENELEC.

La connexion sur Internet reste un luxe pour la plupart des laboratoires ceci est à la limite inadmissible à l'ère de l'informatique et des nouvelles techniques de l'information et de la communication. Une généralisation de la connexion sur Internet à tous les laboratoires pourrait faciliter la mission du RNL quand il disposera de son site Web.

Cette absence de connexion à l'Internet pourrait trouver une explication dans le fait que le registre constitue le seul support utilisé dans la majorité des laboratoires.

L'énergie solaire n'est pratiquement pas utilisée, certainement à cause de la cherté de son installation, mais aussi de son faible rendement en particulier pendant l'hivernage, comparée au groupe électrogène.

V.4.8. Système de référence-Notification

Les milieux de transport pour les selles et le LCR ne sont pas disponibles dans les laboratoires. En effet, ces milieux sont indispensables pour le transport des échantillons en cas de suspicion de choléra, de dysenterie bacillaire ou de méningite bactérienne vers un laboratoire de référence pour confirmation. Le diagnostic clinique est souvent le seul diagnostic possible au niveau périphérique. [23]

L'absence de ces milieux de transport va retarder, en cas d'épidémie, la confirmation des cas et par conséquent le déclenchement d'un plan de riposte efficace par le système de surveillance en place. Ceci pourrait expliquer la durée de l'épidémie de méningite bactérienne survenue au Sénégal au mois de novembre 1998 et qui, malgré une vaccination de masse, s'est prolongée jusqu'au mois de juin 1999 [23].

Les rapports sur les germes à potentiel épidémique et sur la résistance aux antibactériens sont exceptionnels. Tous les laboratoires faisant la culture bactérienne doivent élaborer des rapports sur les germes épidémiogènes [24].

Malheureusement la culture n'est effectuée que dans les laboratoires nationaux, les laboratoires de niveaux périphérique et intermédiaire se limitent généralement à la coloration de Gram.

La transmission régulière de ces rapports vers l'unité de collecte du système de surveillance épidémiologique est primordiale. En effet l'un des objectifs de la surveillance épidémiologique est d'identifier l'apparition de souches résistantes aux antibiotiques usuels [28]. Aussi, permet-elle en cas d'épidémie de mettre en route une antibiothérapie efficace comme le montrent des études menées sur la sensibilité de souches de *Vibrio Cholerae* isolées lors de l'épidémie de choléra qui a sévit à Dakar entre 1995 et 1996. Les résultats obtenus avaient permis de proscrire les antibiotiques suivants du traitement : le chloramphénicol, les sulfamides et le Triméthoprim-sulfaméthoxazole du fait de leur taux de résistance élevé, à l'opposé de la Doxycycline qui restait efficace. [35]

Tout cela montre que le laboratoire en particulier celui de bactériologie est indispensable pour la mise en place d'un système efficace de surveillance des maladies bactériennes à potentiel épidémique.

V.5. Gestion des stocks

En 2002, des ruptures de stocks ont été notées dans la quasi totalité des laboratoires régionaux, la majeure partie des laboratoires nationaux et dans une moindre mesure au niveau périphérique.

Les causes de ces ruptures sont liées à l'absence à grande échelle d'un système régulier de gestion des stocks constatée dans la plupart des laboratoires.

D'autres causes doivent être recherchées notamment au niveau des laboratoires nationaux qui, malgré l'existence d'un système de gestion de stocks dans la plupart d'entre eux, ont eu des ruptures en 2002.

Le RNL en partenariat avec la Pharmacie Nationale d'Approvisionnement doit aider les laboratoires à mieux gérer leurs stocks afin d'éviter les ruptures.

V.6. Recommandations

V.6.1. Au Réseau National de Laboratoires

- Organiser des sessions de formations sur la sécurité au laboratoire, l'assurance qualité, les démarches diagnostiques.
- Elaborer et mettre à la disposition des laboratoires, à tous les niveaux de manuels sur les procédures techniques et la biosécurité.
- Mettre en place un système d'évaluation externe et de supervision formative des laboratoires à l'échelle nationale.
- Doter les laboratoires de milieux de transport, notamment pour les selles et le LCR.
- Organiser le système de notification des données de laboratoires et partager les informations.
- Encourager la spécialisation des responsables des laboratoires de niveau régional.

V.6.2. Aux responsables de laboratoires

- Effectuer de façon systématique le contrôle de qualité interne des analyses.
- Procéder au contrôle continu du bon fonctionnement des appareils
- Procéder au tri et à la décontamination systématique des déchets contaminants.
- Participer régulièrement à la notification des données.

V.6.3. Au Cabinet du Ministère de la Santé

- Eriger le développement des laboratoires parmi les priorités de la politique sanitaire.
- Trouver un ou des partenaires stratégiques pour appuyer le Réseau National de Laboratoires.
- Formaliser la mise en place et les missions du Réseau National de laboratoires pour lui permettre d'atteindre ses objectifs.
- Réserver un quota de personnels de laboratoires dans le recrutement annuel des personnels de santé.

- Doter la coordination du Réseau de Laboratoires d'un budget de fonctionnement, de moyens matériels et humains.

V.6.4. Aux régions médicales

- Faire bénéficier aux responsables de laboratoires des formations en épidémiologie et en informatique, organisées à l'intention des équipes cadres de régions et de district.
- Aider à la mise en place d'incinérateurs fonctionnels dans toutes les régions.

V.6.5. Aux structures hébergeant les laboratoires

- Aider les laboratoires à disposer de locaux suffisants, d'outils informatiques et de personnels qualifiés (recrutement par les comités de gestion).
- Faire assurer la maintenance des équipements de laboratoires, y compris par le biais d'un contrat avec des boîtes privées.
- Faire bénéficier les laboratoires de raccordement aux groupes électrogènes ainsi que d'une connexion sur internet.
- Veiller à la satisfaction des besoins des laboratoires (réactifs, consommables...)

V.6.6. Aux partenaires au développement

Apporter un appui matériel, financier et technique au Réseau de Laboratoires.

CONCLUSION

Le laboratoire d'analyse médical revêt un double intérêt :

- d'abord pour le clinicien : il constitue un outil indispensable pour le diagnostic des maladies humaines et l'orientation thérapeutique.
- Ensuite pour l'épidémiologiste qui a besoin du laboratoire pour la surveillance des germes à potentiel épidémique.

Ce constat nous permet d'affirmer que la situation des laboratoires peut avoir des répercussions sur l'état de santé de la population. Ainsi, il urge pour doter notre pays d'un système de santé efficace, d'optimiser les prestations de nos laboratoires en procédant à des évaluations régulières de leurs activités. C'est dans cette optique que nous avons tenté de faire l'état des lieux des laboratoires d'analyses publics du Sénégal et d'apprécier leur participation à la surveillance épidémiologique.

Le but de notre étude est de faire une évaluation de nos laboratoires afin d'uniformiser les techniques utilisées et d'améliorer la qualité de leurs prestations.

Notre étude est basée sur les résultats globaux et préliminaires d'une enquête réalisée sur l'étendue du territoire par le Réseau National des Laboratoires dans la période allant du 04 au 23 août 2003 dans 80 laboratoires du secteur public, répartis en 3 niveaux dont :

- 51 de niveau périphérique constitué par les laboratoires de District
- 12 de niveau régional représenté par les laboratoires régionaux et ceux des hôpitaux régionaux.
- 17 de niveau national regroupant les laboratoires des hôpitaux nationaux et les laboratoires de référence pour les programmes de lutte.

L'analyse des résultats de cette enquête nous a permis de relever des insuffisances qui affectent la qualité du travail et partant, le rendement des laboratoires. Ainsi avons nous noté :

- **Sur le fonctionnement** : l'absence de support informatique dans la plupart des laboratoires enquêtés : seuls 16 laboratoires en bénéficient.
- **Sur les locaux** : une mauvaise organisation du point de vue spatial. En effet moins de la moitié des laboratoires possède une salle de prélèvement et seuls 26% disposent d'une salle de stérilisation.
- **Sur la sécurité au laboratoire** : l'information n'est donnée régulièrement que dans 22 laboratoires.
Le pipetage à la bouche est toujours constaté. La décontamination des déchets ainsi que leur incinération sont peu pratiquées.
- **Sur les ressources humaines** : le personnel requis n'est pas disponible dans les laboratoires. S'agissant de la formation, peu de laboratoires ont bénéficié de formations continues, de même, les manuels de biosécurité ne sont retrouvés que dans 10% des laboratoires et les manuels de procédures dans seulement 52% des laboratoires.
- **Sur l'assurance qualité** : le contrôle de la qualité interne aussi bien que l'évaluation externe sont peu effectués. Le fonctionnement des équipements est vérifié de manière continue dans très peu de laboratoires. Le constat est le même pour la maintenance.
- **Sur la supervision** : Elle est rarement effectuée : en 2002 un seul laboratoire, de niveau régional, a été supervisé au moins une fois.
- **Sur les commodités** : il n'existe pas de groupe électrogène dans toutes les structures hébergeant les laboratoires et seuls 5% des laboratoires sont connectés sur Internet.
- Enfin, **sur la participation à la surveillance épidémiologique** les milieux de transport pour les selles et le LCR ne sont pas disponibles dans les laboratoires. Les rapports sur les germes à potentiel épidémique et sur la résistance aux antibactériens sont exceptionnels.

A côté de ces faiblesses, quelques points forts sont cependant à noter :

- l'existence de structure de diagnostic partout au Sénégal ;

- l'existence de registres comme support dans plus de 97% des structures ;
- le personnel de laboratoire affirme connaître les risques inhérents au travail dans 93, 75% des laboratoires ;
- les analyses bactériologiques sont effectuées dans tous les laboratoires de niveau régional et en moyenne, dans la moitié des laboratoires de district ;
- la quasi totalité des responsables de laboratoire désire participer à un système de contrôle de qualité ;
- l'eau et l'électricité sont retrouvées dans tous les laboratoires régionaux et dans au moins 94% des laboratoires de district.

Ce constat nous permet de faire un certain nombre de recommandations parmi lesquelles :

- Equiper correctement les laboratoires en les aidant à disposer de locaux suffisants avec un personnel qualifié, de l'outil informatique avec connexion sur Internet, de groupes électrogènes.
- Organiser des sessions de formation dans les domaines suivants : Sécurité au laboratoire, Assurance qualité, Démarches diagnostiques.
- Mettre en place des incinérateurs fonctionnels dans toutes les régions pour qu'ils soient accessibles aux laboratoires pour une élimination correcte des déchets biomédicaux.
- Doter les laboratoires en particulier ceux de niveaux périphérique et régional de milieux de transport, notamment pour les selles et le LCR pour la surveillance des maladies à potentiel épidémique.

A ce prix, la mise en place du Réseau National de Laboratoires pourrait se faire sans entrave, et le laboratoire pourra jouer le véritable rôle qui lui est dévolu.

Bibliographie

1. **AJELLO G. W., FEELEY J. O., HAYES P. S., REINGOL A. L.,
BOLEN G., BROOME CV., PHILLIPS C. J.:**

Trans-Isolate medium : a new medium for primary culturing and transport of
Neisseria meningitidis, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*.
J. clin. Microbiol., 1984, 20 : 55-58.

2. **AKOUA C. L., BOUZID S. A., KAOUSSE A. A., DOSSO M. :**

Apports des tests au latex pour le diagnostic des infections bactériennes à
méningocoque en Afrique.
Cahier santé, 1994, 4 (3), 231-6.

3. **AUDURIER A., LOULERGUE J., LAUDAT P., CARBONNELLE J. :**

Analyse bactériologique des selles in Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A.,
Pinon G., Vargues R. : Bactériologie médicale, techniques usuelles.
SIMEP, Paris, 1987 : 61-64.

4. **BEN ABDELAZIZ A., HARRABI L., GAHA R., TRABELSI L.,
GHANNEM H.:**

La surveillance épidémiologique : domaines, stratégies et qualité.
Microb. Hyg. Ali., 2002, Vol 14, N°39, 37-45.

5. **BEUVERY G. C., VAN ROSSUM F., LAUWERS S., COIGNAU H. :**

Comparison of counters immuno electrophoresis and elisa for diagnosis of bacterial
meningitis.
Lancet, 1979, 1, 208.

6. **BERCHE P. :**

Problèmes posés par l'étude du liquide céphalo-rachidien lors des méningites
microbiennes.
Med. Mal. Infect., 1979, 9, 514-20.

7. BOUREE P. :

Examen de laboratoire en médecine tropicale.

Masson, Paris, 1987, 99-105.

8. BUTTIAUX R., BEERENS H., TACQUET A. :

Manuel de techniques bactériologiques.

Flammarion, Paris, 1963, 85.

9. CARBONNELLE B., KOUYOUMDJIAN S. :

Sécurité dans les laboratoires in Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. : Bactériologie médicale, techniques usuelles.

SIMEP, Paris, 1987 : 31, 32.

10. CARBONNELLE B., KOUYOUMDJIAN S., VARGUES R. :

Structure générale du laboratoire : le laboratoire de bactériologie, architecture et fonctionnement in Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. : Bactériologie médicale, techniques usuelles.

SIMEP, Paris, 1987 : 3-7.

11. CAUSSE G., VANDEKERKOVE M. :

Isolement et identification de *Vibrio Cholerae*

Med. Trop., 1971, 31 : 41-54.

12. CAVALLO J.D., NIEL L., TALARMIN A., DUBROUS P.

Sensibilité aux antibiotiques de souches épidémiques de *Vibro cholerae* et *Shigella dysenteriae*, isolées dans des camps de réfugiés rwandais au Zaïre.

Med. Trop., 1995, 55 : 351-352.

13. CDC / NCID :

Technique de laboratoire pour le diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*.

CDE Edition, Atlanta, 2000, 8-21.

14. CDC / NCID :

Laboratory methods for the diagnosis of epidemic dysentery and cholera.
CDC Edition, Atlanta, 1999, 8-26.

15. CDC / NCID :

Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*.
CDC Edition, Atlanta, 1994, 15-30.

16. CODE DE LA SANTE PUBLIQUE :

Fonctionnement des laboratoires d'analyses de biologie médicale.
Septembre 1993, P. 389-407.

17. DABIS F. :

Epidémiologie d'intervention.
Arnette, Paris, 1992, 109-141.

18. DEBORDES J., GUYOTJEANIN CH. :

La législation du laboratoire d'analyse de biologie médicale.
Edition du Creuset, Paris, 1978, 51-52.

19. DEGLA CH. :

Contribution du laboratoire de bactériologie à l'étude des shigelles : Bilan sur 11 années (1981-1991) au CHU de Fann-Dakar.
Thèse pharm., Dakar, 1992, N°31

20. DENIS F., MOUNIER M. :

Le diagnostic rapide des méningites cérébro-spinales : techniques, résultats, limites et perspectives.
Med. Mal. Inf., 1984, 14 [hors série], 27-36.

21. DENIS F., MOUNIER M., MBOUP S., PRINCE DAVID M. :

Evaluation comparée des méthodes rapides de détection des antigènes bactériens par l'électro-immuno diffusion dans 80 méningites purulentes.

Nouvelle Presse Med., 1977, 6, 3391-96.

22. DENIS F., SAMB A., CHIRON J.P, SOW A., DIOP MAR I. :

Détection rapide et identification spécifique des antigènes bactériens par l'électro-immuno diffusion dans 80 méningites purulentes.

Nouvelle Presse Med., 1977, 6, 3391-96.

23. DIABY A. :

Etude bactériologique des souches épidémiques de *Neisseria meningitidis* isolées à Dakar en 1999.

Thèse Med., Dakar, 2000, N°56.

24. DIRECTION DE LA PREVENTION :

Rapport de l'évaluation du système national de surveillance épidémiologique.

Dakar, Juillet 2002.

25. DODIN A., FOURNIER J.M. :

Méthodes de laboratoires pour le diagnostic de Vibron cholérique et des autres vibrions.

Ed. Inst. Pasteur, Paris, 1992, 16-36.

26. FERRON A. :

Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine.

Editions CROUAN et ROQUES, Paris, 1972, 159.

27. FINCH R. G. :

Gastro intestinal infections in antimicrobial chemotherapy.

Oxford University Press, Oxford, 1995, 3rd edition, 251-262.

28. FOURNIER J. M. :

Le choléra.

EMC (Paris) Mal. Infect., 8026F-10, 1996.

29. FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C. :

Manuel de bactériologie clinique.

Elsevier, Paris, 1992, 2, 1089, 1105.

30. FROST J. A., ROWE B., VANDEPITTE J. :

Acquisition of trimethoprim resistance in epidemic strains of *Shigella dysenteriae* type 1 from Zaïre.

Lancet, 1982, 1, 963.

30. GERMANI Y., SANSONETI P. J. :

Shigellose et infection à *escherichia coli* entéro-invasifs.

Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses 8-026-A-10; 1999; 9 p.

31. GUIBOURDENCHE M., RIOU J. V. :

Identification bactériologique des espèces des genres *Neisseria* et *Bramhamella* ;
Sérogroupe du méningocoque. Evolution de la Nomenclature.

Med. Mal. Infect., 1997, 27, 763-73.

32. JENICEK M., CLEROUX R. :

Epidémiologie : Principes – Techniques – Applications.

Malorine, Paris, 1982, 305-337.

33. KANE S.B. :

Evaluation technique des activités du laboratoire de bactériologie de l'hôpital régional de Saint-Louis.

Thèse Med., Dakar, 2003, N°40.

34. KEBE A. :

Aspects bactériologiques de l'épidémie de choléra à Dakar (1995-1996).

Thèse Pharm., Dakar, 1996, N°30.

35. LEINONEN M., KAYHTY H. :

Comparison of counter current immuno-electrophoresis, latex agglutination and radio immuno assay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* of group A and C.

J. Clin. Pathol., 1978, 31, 1172-76.

36. LE MINOR L., VERON M. :

Bactériologie médicale.

Flammarion, Paris, 1984, 2, 417-27.

37. MALEK K., MINO J. C., LACOMBE K. :

Santé publique. Médecine légale – Médecine du travail.

Editions ESTEM et MED-LINE, Paris, 1996, 26.

38. MARCHAL N., BOURDON J. L., BIMET F. :

Le laboratoire de bactériologie médicale : Equipements, Techniques de base, Sécurité.

Edition Doin, Paris, 1998, 495 p.

39. MENARD R., SANSONETTI P. J., PARSOTE :

No polar mutagenesis of ipa gene defines Ipa. B., Ipa C and D. Effectors.

J. bacterial., 1998, 175 : 5899-5906.

40. OMS :

Le Choléra : la formation sur la lutte contre les maladies diarrhéiques.

OMS, Genève, 1987, 5-15.

41. OMS :

Shigellose : *Shigella dysenteriae* type 1 au Guatemala.
Relevé épidémiologique hebdomadaire, 1991, 66 : 270-1

42. PICKERING L. K. :

Therapy for acute infections diarrhea in children.
J. Pediatr., 1991, 4 : 118-128.

43. PILLET C., BOURDON J. L., MARCHAL N. :

Le laboratoire de bactériologie.
Edition Doin, Paris, 1972, 12-243.

44. PILLY E. :

Maladies infectieuses.
APPIT, Montmorency, 1996, 316-151.

45. ROGERIE F. :

Les Shigelloses.
Encycl. Med. Chir. Maladies infectieuses.
Editions techniques, Paris, 1990, 8026 A 10, 6 p.

46. RUMEAU R. C., BREAT G., PADIEU R. :

Méthodes en épidémiologie.
Flammarion Méd. Science, Paris, 1989, 3-13.

47. SENE I. :

Le choléra à Dakar (à propos de 32 cas bactériologiquement confirmés de Novembre 1984 à Avril 1985).
Thèse Méd., Dakar, 1985, N°167.

48. Service National des Grandes Endémies :

Shigellose et sensibilité aux antimicrobiens.

Bulletin Epidémiologique, 1999, N° 8, 1-2.

49. SIPPEL J. E., PRATO C. M., SAUBORN W. R., GIRGIS N. I. :

Comparaison des tests immunologiques pour déceler les antigènes méningococciques dans le liquide céphalo-rachidien.

Méd. Trop., 1983, 43, 106.

50. SOUMARE M. :

Epidémiologie des shigelloses en milieu hospitalier à Dakar.

Mémoire de CES de maladies infectieuses et tropicales, Dakar, Mars 1999.

**51. SOW A. I., CISSE M. F., SANOU I., DIALLO GAYE A., DIOP P. D.,
BOYE C. S., MBOUP S., SAMB A. :**

Contribution à l'étude du choléra. Bilan de dix années d'isolement de *vibrio cholerae* (1981-1990).

Dakar Médical, 1992, 37, 113-16.

52. SPERGER G., SPIEGELA., BAUDOU D., NAHOR N., PICA J. J.:

Etude comparative de trois examens bactériologiques de la méningite cérébrospinal en période épidémique.

Bull OMS, 1992, 70 (3), 359-62.

53. SUGASAWARA R. J., PRATO C.M., SIPPEL J. E. :

Enzyme linked immunosorbant assay with a monoclonal antibody for detecting group A meningococcal in cerebro spinal fluid.

J. clin. Microbiol., 1984, 19, 230-4.

54. VANDEPITTE J., ENGBACK K., PIOT P., HENCK C. C. :

Bactériologie clinique : Techniques de base pour le laboratoire.

OMS, Genève, 1994, 2-30.

55. VARGUES R.

Maîtrise de la qualité des analyses bactériologiques in Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. : Bactériologie médicale, techniques usuelles. SIMEP, Paris, 1987 : 35.

56. VAUGHAN J. P., MORROW R. H. :

Manuel d'épidémiologie pour la gestion de la santé au niveau du district.
OMS, Genève, 1991, 45-56.

Annexes

Liste des maladies prioritaires

La liste des maladies prioritaires retenues comprend 22 affections qui sont les suivantes :

- Maladies à éradiquer : Poliomyélite, Dracunculose

- Maladies à éliminer : Tétanos, Lèpre, Trachome

- Maladies à potentiel épidémique : Choléra, Méningite, Dysenterie bacillaire (shigellose), Fièvre jaune, Rougeole, autres fièvres hémorragiques virales, Peste.

- Maladies à forte importance en santé publique : Paludisme, Diarrhée, Infection respiratoire, Onchocercose, Schistosomiase, Tuberculose, IST / SIDA, Trypanosomiase, Filariose lymphatique.