



ENTRAIDE SANTE 92



GIP ESTHER



**ASSISTANCE
PUBLIQUE**

**HÔPITAUX
DE PARIS**

**Partenariat ESTHER
Convention 2007 079**

Rapport de Mission

ENTRAIDE SANTE 92

Mission réalisée du 17 au 23 mai 2009

**Hôpital Régional de Moundou
TCHAD**

Membres de la mission

Docteur Guilène Barnaud, bactériologiste, CHU Louis Mourier (APHP), Colombes 92,
Gérard Leturnier, technicien de laboratoire, CHU Louis Mourier (APHP), Colombes 92,
Marc Vereecke, technicien du service technique, CHU Louis Mourier (APHP), Colombes 92.

PLAN

Liste des acronymes utilisés	2
Liste des annexes	2
1. Contexte de la mission	3
2. Objectif de la mission	3
3. Calendrier de la mission	4
4. Formation « soutien au laboratoire »	5
4.1- Bactériologie	6
4.1.1 État des lieux	
4.1.2 Points abordés	
4.1.3 Conclusion et perspectives	7
4.2 – Locaux	7
4.3 – conclusion	8
4.3.1 Points positifs	
4.3.2 Difficultés rencontrées	
5. Formation « maintenance »	8
5.1. Actions menées	9
5.2. Conclusion	9

Liste des acronymes utilisés

PNLS : programme national de lutte contre le sida
PNLT : programme national de lutte contre la tuberculose
ES92 : Entraide Santé 92
HRM : Hôpital régional de Moundou
CHU : Centre hospitalier universitaire
ECBU : Examen cyto bactériologique des urines
PV : Prélèvement vaginal

Liste des annexes

- I - liste des participants
- II - pré et post test
- III - liste des documents pédagogiques et liste de matériel

CONTEXTE DE LA MISSION

Cette mission s'inscrit dans le prolongement du partenariat débuté en 2005 et soutenu par le GIP Esther entre l'Hôpital Régional de Moundou (HRM) et Entraide Santé 92. L'objectif de cette mission est de renforcer les compétences du laboratoire de l'hôpital et de faire une seconde mission sur la maintenance des appareils du laboratoire, de la stérilisation, du bloc opératoire et de la radiologie.

Le soutien au laboratoire et au service de maintenance était initialement prévu dans le cadre d'une convention entre l'HRM et le CHU de Poitiers, mais ce dernier s'est retiré suite aux événements survenus au Tchad en février 2008. Selon la convention signée avec le GIP ESTHER et le CHU de Poitiers, ce dernier devait assurer la maintenance des appareils médicaux, la formation de techniciens de maintenance et la mise en fonctionnalité du laboratoire. Un plan d'action qualité au laboratoire avait été réalisé en avril 2006 en partenariat avec Initiative Développement mais sans concrétisation à ce jour.

Afin de soutenir un service clef de la prise en charge des malades (le laboratoire et la maintenance) Entraide santé 92 a proposé au GIP Esther d'assurer ce soutien.

Cette mission d'une semaine était composée d'un bactériologiste (pour renforcer les compétences en bactériologie), d'un technicien de laboratoire et d'un technicien du service technique pour l'évaluation et la formation de compétences locales.

2. OBJECTIFS DE LA MISSION

Cette mission intitulée « mise à niveau au laboratoire et maintenance » s'inscrit dans un souci d'amélioration de la prise en charge et du suivi des malades VIH à Moundou. En effet le laboratoire de biologie de l'Hôpital Régional de Moundou présente plusieurs dysfonctionnements qui perturbent le bon déroulement des analyses et retentissent sur la fiabilité des résultats. Au niveau des autres services, un certain nombre d'appareils sont défectueux.

Les objectifs de la mission au laboratoire étaient d'assurer une formation sur :

- ✓ l'utilisation des bandelettes urinaires,
- ✓ l'ensemencement quantitatif des urines avec lecture interprétative de la culture,
- ✓ l'utilisation des galeries API10S pour l'identification des entérobactéries,
- ✓ la réalisation des antibiogrammes avec la lecture interprétative,
- ✓ la réalisation des coprocultures pour isolement et identification des *Salmonelle* et *Shigelle*
- ✓ la lecture des Gram réalisés sur les prélèvements vaginaux

3. CALENDRIER DE LA MISSION

JOUR	ACTIVITE
dimanche 17/05	Arrivée à 22h à N'djamena de l'équipe d'Entraide Santé 92. Accueil par le Dr Narassem Mbaidoum (coordinatrice Esther au Tchad) Nuit à l'annexe de l'hôtel Shanghai
lundi 18/05	Démarches administratives (location voiture, change). Transfert sur Moundou
mardi 19/05	8h-10h30 : Rencontre avec Jean Claude Sorin (conseiller du directeur) pour finaliser l'aspect logistique de la semaine et prise de contact avec Mr. Dobel Nemonguel (directeur de l'hôpital). Visite de l'hôpital 10h30 -13h : Visite du laboratoire avec le responsable Alphonse Beassoumi et la cadre Honorine Netalar Distribution des différents matériels apportés Mise en place du test de la bandelette urinaire (15 urines analysées), Ensemencement des urines avec anse de platine calibrée Coloration du Gram revue et lecture des examens directs des urines et des prélèvements vaginaux 13h : déjeuner avec tous les participants à la formation 14h00 -16h30 : Distribution du questionnaire pré-test (cf annexe) Cours théorique sur les infections urinaires et utilisation de la bandelette urinaire
mercredi 20/05	8h - 13h30 : Compagnonnage au laboratoire : Traitement des urines (bandelette urinaire) avec les techniciens non disponibles la veille. Comptage en cellules de Nageotte et Malassez Prélèvements vaginaux : Etat frais et coloration sur la même lame après avoir enlevé la lamelle Coloration de Gram en abandonnant la fixation à la chaleur, remplacée par l'alcool (cytologie moins altérée et lecture plus aisée) Lecture des Gram des Urines et Prélèvements vaginaux Préparation de milieux gélosés (Hektoen et Chapman) Lecture des isoléments de la veille (culture quantitative des urines) 13h30 : Déjeuner avec tous les participants à la formation 14h : Formation pratique : Lecture des galeries API10S et réalisation d'antibiogramme sur les urines ensemencées la veille avec présentation des bonnes pratiques et de la dilution adéquate pour réaliser l'antibiogramme 15h15- 16h15 : Formation théorique sur les prélèvements vaginaux + lecture de lames de collection Dîner et synthèse avec J.C Sorin
jeudi 21/05	8h - 13h30 : Compagnonnage au laboratoire : Traitement des urines, lecture des galeries Api 10S et des antibiogrammes, traitement des prélèvements vaginaux, lecture des Gram. Lecture des milieux ensemencés la veille Formation pratique sur la coproculture : intérêt du milieu Hektoen et lecture sur ce milieu avec des souches de <i>Salmonella spp</i> et <i>Shigelle spp</i> ensemencées la veille Rappel du principe du test de la catalase et de l'oxydase avec démonstration sur des souches ensemencées la veille 13h30 : Déjeuner avec tous les participants 14h20-15h30 : Formation pratique : lecture de lames (vagins et coproculture) 15h30 : Distribution de tableaux dichotomiques et d'arbres décisionnels (Cf annexe)
vendredi 22/05	8h - 13h : Compagnonnage au laboratoire (idem la veille) + ensemencement de 5 selles arrivées au laboratoire avec examen microscopique 13h : Déjeuner avec tous les participants à la formation 14h – 15h 30: Test de fin de formation, correction et discussion du pré test. Echanges de questions-réponses
samedi 23/05	8h30 : Supervision des résultats bactériologiques des cultures ensemencées la veille (urines et coprocultures). 11h00 : Remise à chaque participant de l'attestation de formation 11h00-12h00 : Visite avec le Dr E. Mortier du laboratoire des urgences, du service des urgences, du pavillon des patients tuberculeux et du service de Pédiatrie Déjeuner avec le Dr Emmanuel Mortier (ES92) et les participants à la formation 14 h retour sur N'Djamena avec arrêt à Bongor pour dormir à la maison d'accueil
dimanche 24/05	Retour sur N'Djamena 00h30 Transfert sur Paris

4. FORMATION SOUTIEN AU LABORATOIRE

La formation dont l'objectif initial était de renforcer les compétences professionnelles dans le domaine de la bactériologie s'est déroulée sur quatre jours et s'est effectuée en deux étapes :

- 8h à 13h : mise en place de la bandelette urinaire pour le screening des urines. Ensemencement des urines positives à la bandelette urinaire. Lecture des Gram. Lecture interprétative des milieux ensemencés avec réalisation des galeries API10S et des antibiogrammes.
Cette formation s'est faite avec les deux techniciens responsables de la bactériologie, Mme Honorine Netalar et Mme Tadjion Rachel ainsi que 4 autres techniciens du laboratoire et un technicien de l'hôpital de Bébalem.
- 14h à 16h : formation théorique et pratique

Le groupe participant à la formation était constitué de 8 personnes (cf. annexe I)

- 5 techniciens de laboratoire de l'hôpital régional de Moundou ;
- Alphonse : responsable du laboratoire de biologie ;
- Honorine : cadre du laboratoire ;
- Gédéon : technicien du laboratoire de l'hôpital de district de Bébalem ;

et de deux formateurs des hôpitaux parisiens : Dr Guilène Barnaud (bactériologiste, ES92) et Gérard Leturnier (technicien de laboratoire, ES92).

Dans le contexte tchadien et après entendement avec la direction de l'HRM, il a été décidé d'indemniser les participants sur la base de 10 000 FCFA pour la durée de la formation.

La formation a été réalisée sous différentes formes :

- formation théorique avec présentations magistrales sur power point,
- formation pratique: lecture au microscope de lames de collection (prélèvements vaginaux et coprocultures) ou de lames réalisées à partir des prélèvements techniqués au laboratoire,
- nombreux échanges et conseils ont été donnés lors du compagnonnage,
- mise à disposition au laboratoire d'un certain nombre de documents et de réactifs (cf. annexe III).

L'évaluation a porté sur la présence d'un pré et post test (cf. annexe II) et une attestation de présence a été remise à chaque participant.

4.1 BACTERIOLOGIE

4.2.1 état des lieux

L'activité du laboratoire comprend essentiellement :

- Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :
 - le laboratoire reçoit en moyenne 15 ECBU /j,
 - urine recueillie le plus souvent dans des pots non stériles : problème de contamination,
 - centrifugation et examen direct sur le culot, coloration de Gram,
 - si le nombre de leucocytes est supérieur à 30/mm³ (appréciation très aléatoire sur l'état frais) ensemencement sur gélose CLED seulement pour les urines pour lesquelles figure sur la « feuille de demande » : ECBU + antibiogramme.
 - En effet il existe deux types de demandes : ECBU (culot urinaire) tarifé à 500 FCFA et ECBU + culture + antibiogramme tarifé à 3000 FCFA.
- Prélèvements vaginaux :

- prélèvement sur écouvillon sec mais réalisé au sein du laboratoire par les techniciennes,
 - examen direct et coloration de Gram,
 - ensemencement systématique sur gélose Muller Hinton et gélose Chapman
- Crachats, spermogramme, écouvillons divers de suppuration, de plaie, d'écoulement... : prélèvements beaucoup plus rares (nous n'avons vu sur la semaine qu'un prélèvement de pus)
 - mise en culture sur gélose chocolat en anaérobiose, gélose Chapman et gélose CLED
 - Selles : **pas de culture bactérienne**
 - Liquide céphalorachidien (LCR) :
 - numération en cellule de Malassez : en présence de leucocytes, la formule qui permettrait d'orienter le diagnostic vers une méningite virale ou bactérienne n'est pas effectuée,
 - coloration de Gram si nécessaire,
 - ensemencement uniquement sur une gélose chocolat en anaérobie (réalisée au moyen d'une bougie, jarre laissée sur la paillasse : problème de température d'incubation !).

Le laboratoire reçoit également des LCR provenant des dispensaires et qui arrivent dans des milieux de transport fournis par la délégation. Ces prélèvements sont mis en culture au laboratoire mais en cas de positivité il n'y a pas d'antibiogramme réalisé. Ils sont conservés afin d'être collectés par la délégation pour des études épidémiologiques.

4.1.2 Points abordés

La formation s'est déroulée lors du compagnonnage avec les 2 techniciens responsables de la paillasse de bactériologie ainsi que 4 autres techniciens et un technicien de l'hôpital de Bébaïem.

- **Le premier point abordé concernait l'analyse des urines (ECBU) :**
 - Nous avons introduit l'utilisation de la bandelette urinaire permettant ainsi de n'ensemencer que les urines avec des leucocytes et/ou des nitrites (économie de boîte dont le laboratoire est malheureusement souvent en rupture).
 - Nous avons également revu l'ensemencement des urines : à l'aide d'anes calibrées apportées au laboratoire, un ensemencement quantitatif est désormais possible permettant une numération fiable du nombre de colonies/ml d'urines et donc une interprétation de la culture des urines.

Nous avons ré abordé l'utilisation des galeries API10S (mise en place lors de la dernière mission en Janvier 2009).

Enfin nous avons revu la technique de l'antibiogramme en insistant sur la préparation de l' inoculum adéquat.

La technique d'ensemencement en stries à été reprise afin d'optimiser l'isolement des germes.

Nous avons également insisté lors de la formation théorique sur l'importance du recueil des urines : il ne semble pas qu'il y ait de recommandation au niveau du laboratoire quand à la façon dont le patient doit recueillir son urine.

- **Le second point abordé concernait la prise en charge des prélèvements vaginaux :** la formation a insisté sur l'importance de l'examen direct pour diagnostiquer les 3 principales « pathologies » infectieuses vaginales (candidose, vaginite à *Trichomonas vaginalis*, vaginose bactérienne). En effet l'ensemencement des PV tel qu'il est réalisé actuellement (c'est-à-dire sur gélose Mueller- Hinton et gélose Chapman) est inutile : les principaux germes ne poussant que sur milieux enrichis (gélose au sang frais et gélose chocolat, milieux dont ne dispose pas le laboratoire).

- **Le troisième point abordé a porté sur la coproculture** : des milieux Hektoen ont été coulés et nous avons pu isoler des souches de *Salmonelle* et de *Shigelle* ramenées de France afin de montrer aux techniciens l'aspect des colonies suspectes sur ce milieu. Des selles ont été égalementensemencées : nous avons pu reprendre les différentes étapes de l'analyse bactériologique des selles: état frais, Gram, ensemencement sur milieu Hektoen et lecture des milieux après incubation (recherche des colonies suspectes et tests à réaliser sur les colonies suspectes).

4.1.3 Conclusion et perspectives

Le compagnonnage a permis de mettre l'accent sur le fait que la bactériologie est extrêmement rudimentaire. Nous avons pu reprendre l'analyse bactériologique des urines, des prélèvements vaginaux ainsi que des selles. Nous avons établi différents arbres décisionnels pour faciliter l'identification des bactéries. Nous avons également mis en place des procédures adaptées pour chaque prélèvement étudié (cf annexe III).

Une formation sur les antibiogrammes (sensibilité et résistance des principaux germes avec mise en place d'un antibiogramme adapté à chaque germe et testant les antibiotiques disponibles sur le marché) nous semble indispensable.

La qualité des milieux de culture est essentielle, l'introduction d'autres milieux plus sélectifs et de tests complémentaires est à envisager.

Proposition d'amélioration du laboratoire

Optimiser l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

Etat de la situation : les prescripteurs actuellement ont le choix entre prescrire un ECBU (500 FCFA) ou un ECBU avec antibiogramme (3000 FCFA). Cette situation est compliquée car les échantillons d'urines non stériles ne sont pas techniqués tant que les patients n'ont pas payé l'antibiogramme. Les médecins ne peuvent utiliser correctement les résultats incomplets. La formation a porté sur l'utilisation des bandelettes urinaires qui permettent d'exclure rapidement les urines stériles, évitant ainsi le gaspillage des réactifs et représentant un gain de temps pour les techniciens. La culture d'urine peut ainsi être limitée aux prélèvements suspects ce qui limite par 3 environ le nombre d'urine nécessitant un milieu de culture et un antibiogramme.

Il est proposé à la direction la mise en place d'un tarif unique pour l'ECBU (peut être 1000 FCFA). Ce tarif inclut la réalisation de la bandelette urinaire à tous les échantillons et la réalisation de la culture et antibiogramme uniquement aux échantillons suspects.

La coproculture et le Widal et Félix

La formation sur la coproculture permet maintenant de réaliser cet examen et de diminuer les tests de Widal et **Félix peu interprétables en l'absence de dilution**. Le test de Widal et Félix, tel qu'il est réalisé actuellement **est inapproprié** aussi bien dans la réalisation, son interprétation et son intérêt comme élément de diagnostic.

L'indication de la coproculture doit être posée par les médecins sur des arguments bien identifiés : diarrhée sanglante fébrile, diarrhée fébrile, suspicion de typhoïde.

Le coût d'une coproculture avec identification et antibiogramme pourrait être facturé à 3000 FCFA.

4.2 LOCAUX

Au cours de la mission, nous avons constaté que la pièce dédiée à la bactériologie était petite, non climatisée et non conforme quant aux exigences de sécurité. Beaucoup de personnes passent par cette pièce et peuvent gêner le travail du technicien de bactériologie. Il nous semble

indispensable de réaménager les locaux et de prévoir une pièce fermée dédiée à la bactériologie.

De plus nous avons constaté que **les microscopes ne sont jamais recouverts d'une housse** qui est indispensable pour les protéger de la poussière.

4.3 CONCLUSION

4.3.1 Points positifs

L'assiduité du groupe a été excellente. La formation théorique s'est adressée à 7 techniciens dont le responsable du laboratoire de l'hôpital Régional de Moundou et 1 technicien de l'hôpital de Bébalem.

La formation s'est déroulée de façon très conviviale, animée et engendrant de nombreux échanges entre eux et les formateurs.

L'évaluation de fin de formation montre une progression des connaissances. Le personnel du laboratoire a conscience d'être un élément clé dans le diagnostic et le suivi des patients et exprime son souci de s'améliorer par des formations de base.

4.3.2 Difficultés rencontrées au cours de la mission

Actuellement, le manque d'approvisionnement en milieux de cultures et réactifs adéquats freine la mise en place d'une procédure complète en bactériologie.

Il faut également insisté sur la qualité et en particulier la stérilité des pots à prélèvement, notamment les urines afin d'éviter les contaminations.

5 - MAINTENANCE

L'objectif de la formation « maintenance » était de former des techniciens, de réparer dans la mesure du possible et de faire un inventaire du matériel à réparer mais qui demande des pièces spécifiques

Prise de contact avec l'équipe de maintenance : Mr Philippe, responsable de la maintenance sur l'hôpital, Armand, Mahamat et visite du laboratoire et des différents services de l'hôpital

5.1. Actions menées

Urgences	
Appareils (quatre) O2 devilbiss 515 KS	<ul style="list-style-type: none">- démontage de l'appareil- nettoyage de filtres- nettoyage des différentes platines électroniques couvertes de poussière▶ Essais OK
Scope en panne	<ul style="list-style-type: none">- ouverture du capot<ul style="list-style-type: none">- vérification des batteries (HS)- carte électronique HS▶ appareil à garder pour pièces
STERILISATION	
autoclave Marque Lequeux (année 1950)	<ul style="list-style-type: none">- joint de couvercle remplacé- remplacer manomètre de pression▶ à commander deux joints pour stock

BLOC OPERATOIRE	
Scialytique ALM Brismatic	<ul style="list-style-type: none"> - remplacement des lampes - prévoir le remplacement du support de lampes - prévoir plusieurs lampes en stock
Appareil O2 devilbiss	<ul style="list-style-type: none"> - nettoyage des filtres et réglage
Salle 3	<ul style="list-style-type: none"> - Mise en services du générateur O2 de marque Echo 2 - vérification de l'appareil Monal D2
Prises électriques	<ul style="list-style-type: none"> - Salle 2 plusieurs prises a remplacer - Bon de commande fait au niveau de la maintenance
LABORATOIRE DE BIOLOGIE	
Chambre froide	<ul style="list-style-type: none"> - Dépoussiérage complet de l'appareil qui a démarré mais le compresseur est HS Appareil trop vieux pour être réparer et rentable
Centrifugeuse de paillasse Jouan C200	<ul style="list-style-type: none"> - Programmeur HS, adaptation sans succès d'un autre modèle
Réfrigérateurs	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnostique de trois appareils en panne avec le responsable de la maintenance et bon de commande validé par le directeur pour réparation
RADIOLOGIE	
Echographe	<ul style="list-style-type: none"> - Sonde echo ref :Soxoace 500 HD HS - Photo prise pour commande
PEDIATRIE	
Appareil O2 devilbiss 515 KS	<ul style="list-style-type: none"> - Réparation du câble d'alimentation coupé - Nettoyage complet
MATERNITE	
Livraison et mise en service d'un aspirateur de mucosité de marque Laminet que nous avons apportés	

5.2. Conclusions

Un certain nombre d'appareils ont pu être réparés et installés en partie avec l'aide des techniciens qui ont participé de manière active à cette formation. Nous avons eu beaucoup de

coupure électriques et d'énormes problèmes de tension qui a fortement réduit le nombre de réparation et vérification.

L'objectif est de mettre en place une maintenance préventive et de revoir le système électrique notamment les prises à fixer correctement au mur.

Les références des appareils, qui n'ont pu être réparés, ont été notées afin de trouver les pièces et de les remettre en état lors de la prochaine mission.

Demande auprès de la direction de l'hôpital

Remplacer ou remettre en état le groupe principal de l'hôpital et son automate ainsi que le tableau électrique.

Commande d'un petit compresseur d'air pour entretenir et dépeussier le matériel dans les services tous les mois.

Commander pour le service maintenance : masque a souder ; pince ampère métrique ; testeur électrique ; scie a métaux ; perceuse sans fils et scie sauteuse.

ANNEXE I

Liste des participants à la formation « mise à niveau au laboratoire »

Nom et prénom	Fonction
Beassoum Alphonse	Responsable du laboratoire
Netalar Honorine	Cadre du laboratoire
Djetoura Jairus	Labo biochimie / coagulation
Abakar Kriga	Labo CD4 / bactériologie/ coprologie
Tadjion Rachel	Labo bactériologie
Mbainaissem Elisée	Labo hématologie/bactériologie
Naibe Woreyao Charlène	Labo hématologie
Behidi Dingangoto Gédéon	Laboratoire de Bébalem

Liste des participants à la formation « maintenance »

Philippe
Arman
Mahamat

ANNEXE II

Fiche d'évaluation (Pré-test)	Hôpital régional de Moundou
	Nom (facultatif) :

QUESTIONS : cochez vrai ou faux

VRAI
F
AUX

1- BACILLES A GRAM NEGATIF

Klebsiella pneumoniae hydrolyse l'urée ?

Les entérobactéries sont dépourvues d'oxydase ?

Les entérobactéries fermentent toujours le glucose ?

Shigella n'est pas une entérobactérie ?

Salmonella est une bactérie immobile ?

Pseudomonas est une bactérie aéro-anaérobie facultatif ?

Pseudomonas est une bactérie possédant une oxydase ?

2- COCCI A GRAM POSITIF

Staphylococcus aureus produit une catalase ?

Les staphylocoques produisent toujours une coagulase ?

Pneumocoque est un diplocoque à Gram + encapsulé ?

Streptocoque produit une catalase ?

3- COCCI A GRAM NEGATIF

Neisseria meningitidis possède une oxydase ?

Le gonocoque est souvent intracellulaire à l'examen microscopique ?

Les *Neisseria* nécessitent pour leur croissance 5 % de CO₂ ?

4- MILIEUX DE CULTURE

La gélose au « sang cuit » (chocolat) est un milieu pauvre ?

La gélose Hektoen n'est pas un milieu sélectif ?

Le test de la catalase ne se fait pas sur un milieu au sang ?

Fiche d'évaluation (post-test)	Hôpital régional de Moundou
	Nom (facultatif) :

1- Vous recevez une urine pour ECBU. La bandelette urinaire indique :

1/ Hématies : absence
 Leucocytes : 500/mm³
 Nitrites : +++
 Que faites vous ? oui non

<i>Gram</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Culture</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Pas de culture</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2/ Hématies : absence
 Leucocytes : absence
 Nitrites : absence
 Que faites vous ? oui non

<i>Gram</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
-------------	--------------------------	--------------------------

<i>Culture</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pas de culture	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3/ Hématies : 250/mm³
 Leucocytes : 75/mm³
 Nitrites : absence

Que faites vous ?	oui	non
<i>Gram</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Culture</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Pas de culture</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2- Sur le milieu Hektoen les :

		oui	non
Shigelle forment des colonies	Lactose +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	A centre noir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Lactose -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		oui	non
<i>Salmonella</i> forment des colonies	Lactose +	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	A centre noir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Lactose -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3- Le milieu Hektoen est sélectif pour :
 Indiquez la (les) affirmation(s) exacte(s).

Bacilles Gram (-) dont les entérobactéries pathogènes	Staphylocoque
Pseudomonas	Streptocoque/
Enterocoque	

4- Le milieu de Chapman est sélectif pour :
 Indiquez la (les) affirmation(s) exacte(s).

Bacilles Gram (-)	Staphylocoque doré
Staphylocoques « blancs »	Levures
Streptocoque/ Entérocoque	

5- Sur milieu de Chapman, le Staphylocoque doré donne :
 Indiquez l'affirmation exacte

des colonies jaunes
 des colonies blanches

6- La flore vaginale normale est constituée majoritairement de :
Indiquez l'affirmation exacte

- de bacilles à Gram positif
- de bacilles à Gram négatif
- de cocci à Gram positif
- de cocci à Gram négatif

Matériels mis à disposition (bactériologie)

- galeries Api10S 1 coffret x 50 réf : 10100 / BioMérieux
- huile de paraffine 1 x 125 ml réf : 70100 / BioMérieux
- ID color Catalase 3 x 100 tests réf : 55561/ BioMérieux
- Gélose Chapman 500 gr réf : 51053 / BioMérieux
- gélose Hektoen 500 gr réf : 51050 / BioMérieux
- gélose Trypticase Soja 500 gr réf : 51044 / BioMérieux
- gélose Cled 500 gr réf : 51052 / BioMérieux
- anse en contracid 12 réf : AC40073 /Labomoderne
- porte anse avec mandrin 12 réf : PA/Labomoderne
- Combur 7 test 2 réf : AR02249 /Roche Diagnostics
(Boîtes de 100)
- Multistix 2
(Boîtes de 100)
- Boîtes de lames 3 boîtes

Outils pédagogiques mis à disposition

- Remise à chaque technicien d'arbres décisionnels pour l'identification des Bacilles Gram négatif, des Cocci Gram négatif, des Cocci Gram positif et des Bacilles Gram positif
- Remise à chaque technicien des supports de cours
- Remise d'une boîte de lames colorées au Gram (PV et Selles)
- Procédures remises au cadre du laboratoire

Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

BA/00

nombre de pages :

rédaction	vérification	approbation	entrée en vigueur

NATURE DU PRELEVEMENT

Urines

EXAMEN DIRECT

Aspect macrosocopique

Noter l'aspect de l'urine : claire, trouble, hématurique, purulente

Numération des cellules

Homogénéiser l'urine

Numérer les leucocytes et les hématies par mm³ dans une cellule de Nageotte (cf annexe)

Noter la présence éventuelle de germes, de levures et de *Trichomonas vaginalis*

Coloration de Gram

Centrifuger 10 min à 2000 tours/min, 5 ml d'urines

Rejeter le surnageant, réaliser à partir du culot un frottis mince

Coloration de Gram

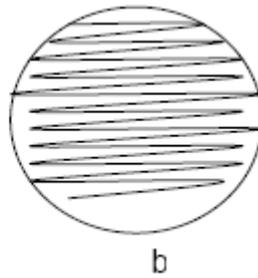
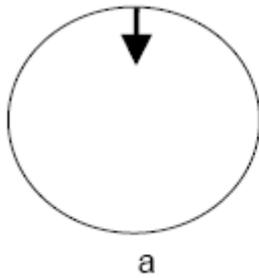
Lecture à l'objectif à immersion x100 : estimation semi quantitative des germes

CULTURE

Ensemencement sur milieu CLED

Décharger 10 µl d'urine homogénéisée avec l'anse de 10 µl en réalisant une strie sur le 1^{er} quart de la boîte (a)

Puis sans recharger l'anse faire des stries perpendiculaires très serrées sur toute la surface de la boîte (b)

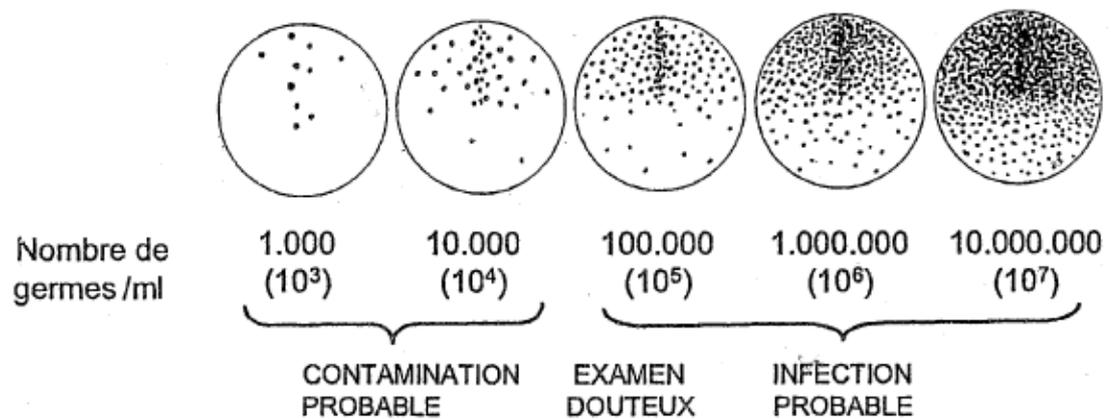


Incubation : 37°C 24 h

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture

Numération des colonies : 1 colonie = 10.2 germe/ml



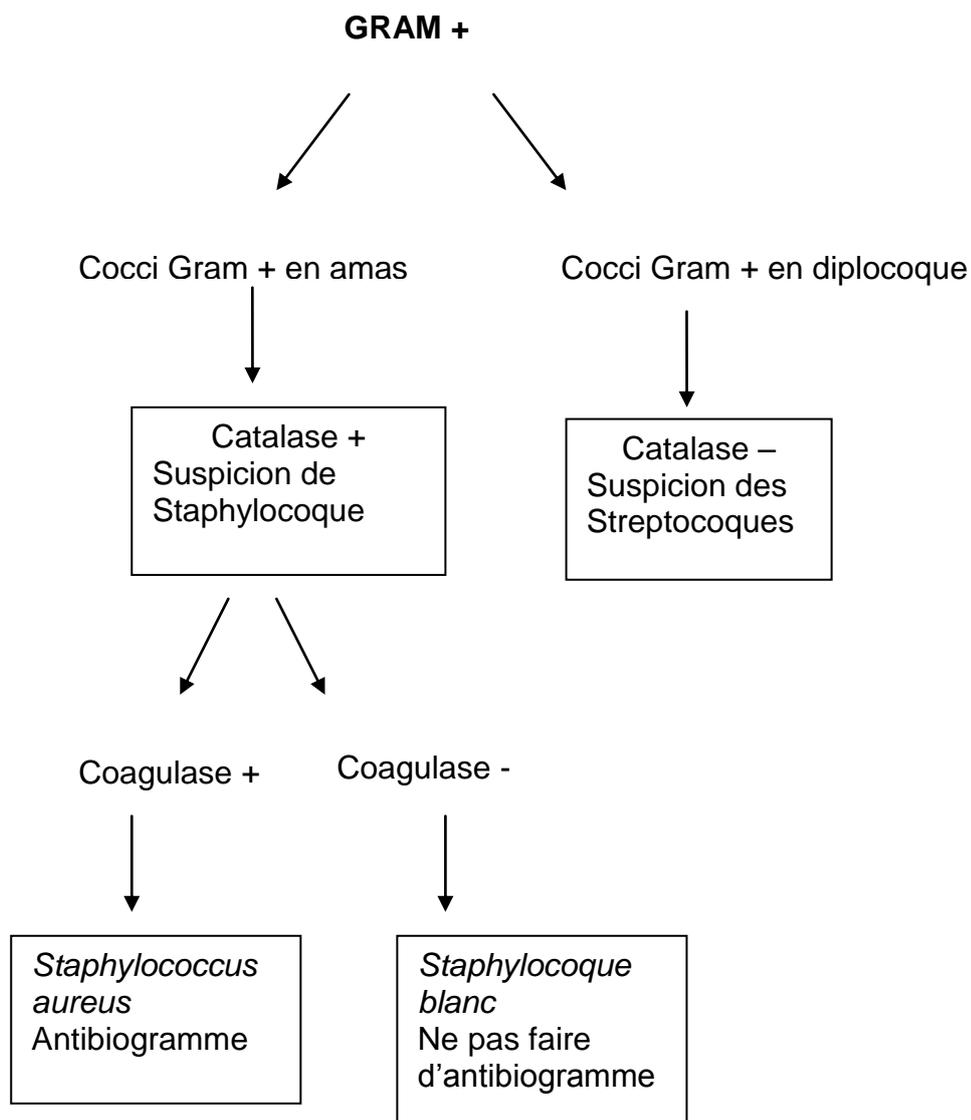
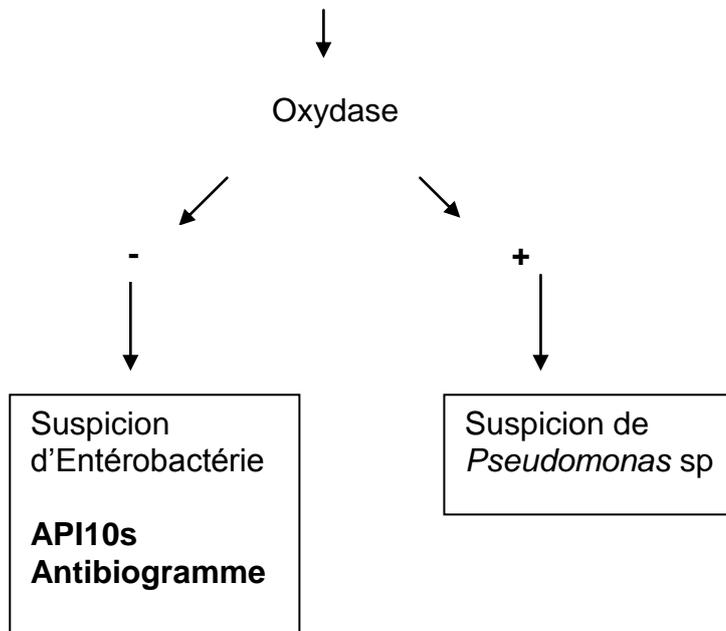
Identification

Réalisée en fonction de la numération des germes

- numération significative : >10.4 UFC/ml et < 2 espèces bactériennes
- si > 2 espèces bactériennes : ne pas étudier : rendre Flore polymorphe, étude non poursuivie.

Faire un Gram sur la colonie :

GRAM -



HOPITAL REGIONAL DE MOUNDOU
Laboratoire de Biologie Médicale

Bandelettes urinaires

BA/00

nombre de pages :1

rédaction	vérification	approbation	entrée en vigueur

NATURE DU PRELEVEMENT

Urines

CONSERVATION

Dans le flacon hermétique clos à une température < 30°C

UTILISATION DES BANDELETTES

Faire l'analyse moins de 1 heure après le recueil des urines

Homogénéiser délicatement les urines

Sortir une bandelette du flacon **sans toucher les zones réactives. Refermer le flacon immédiatement**

Immerger brièvement la bandelette (1 sec au maximum dans l'urine) de manière à ce que toutes les zones réactives soient au contact de l'urine

La bandelette doit être égouttée en passant le bord de la bandelette contre le rebord du récipient

Le bord de la bandelette est tapoté brièvement 1 sec environ sur une surface absorbante

Maintenir la bandelette en position horizontale

Attendre **60 sec** (pour les leucocytes jusqu'à 120 sec)

Puis lire en tenant la bandelette près de l'échelle colorimétrique



ANTIBIOGRAMME

BA/00

nombre de pages :3

rédaction	vérification	approbation	entrée en vigueur

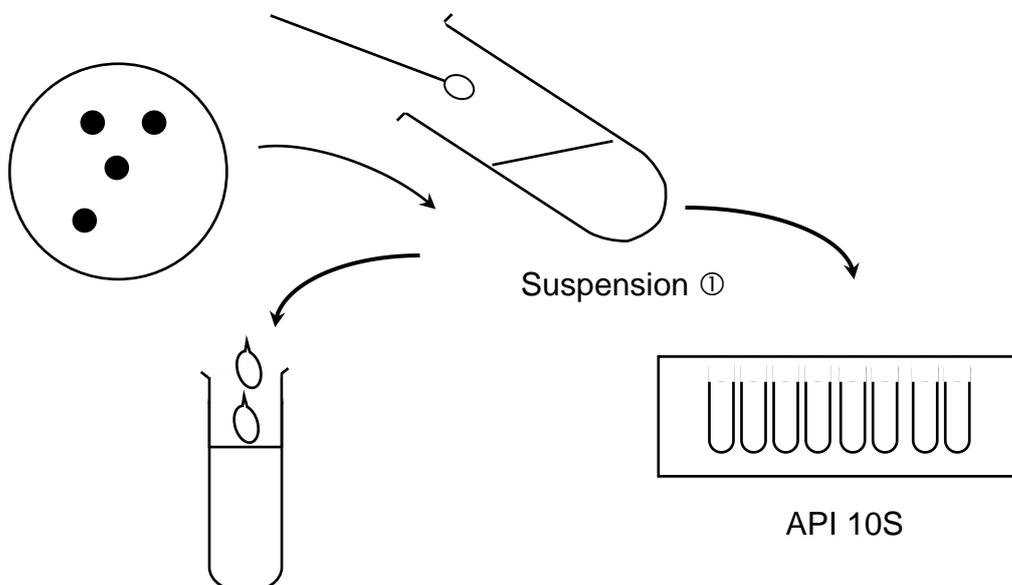
Milieus utilisés

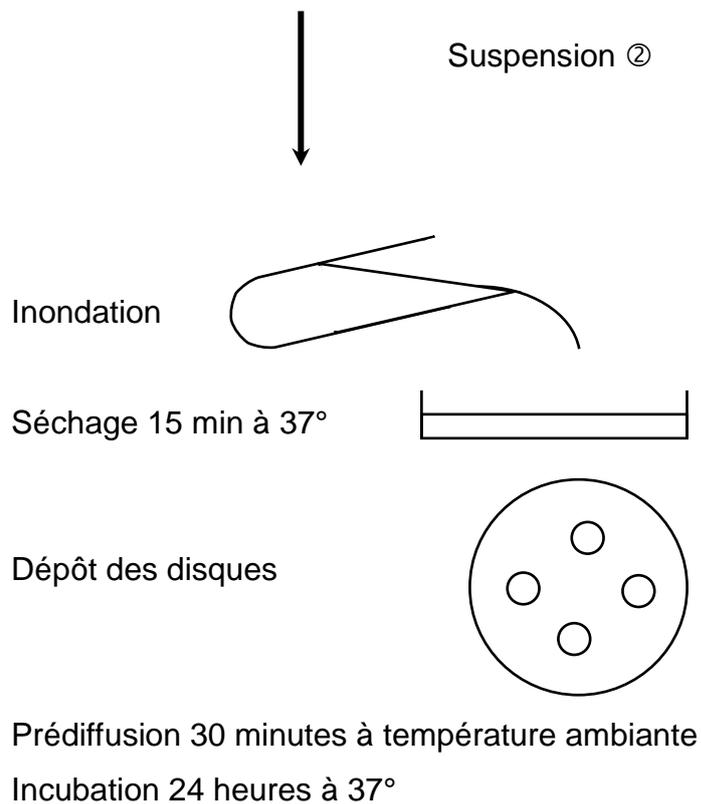
Milieu Mueller Hinton (MH)

Inoculum

- ☞ Toucher 3 à 4 colonies identiques
- ☞ Les dissocier dans 3 mL d'eau stérile (suspension①)
- ☞ Reprendre 2 gouttes de cette suspension ① et les mettre dans 10 mL d'eau stérile (suspension②)
- ☞ Puis inonder la boîte de Mueller-Hinton avec cette suspension ②
- ☞ Bien réaspirer l'excédent de liquide
- ☞ Sécher la boîte à l'étuve 37°C pendant 15 minutes
- ☞ Déposer les disques d'antibiotiques
- ☞ Laisser prédiffuser 30 minutes à température ambiante
- ☞ Incuber 24 heures à 37°

La suspension 1 peut aussi servir à inoculer une galerie API





STAPHYLOCOQUES et STREPTOCOQUES

Disposer sur les géloses MH les disques d'antibiotiques suivants en les espaçant de 30 mm centre à centre

Ampicilline ou Amoxicilline

Augmentin

Pénilline

Oxacilline

Gentamycine

Streptomycine

Tétracycline

Clindamycine

Erythromycine

Ofloxacin

Nitrofurantoïne

Chloramphénicol

BACILLES A GRAM NEGATIF ENTEROBACTERIES

Disposer sur les géloses MH les disques d'antibiotiques suivants en les espaçant de 30 mm centre à centre :

Amoxiciline

Augmentin

Ceftriaxone

Gentamycine

Acide nalidixique

Ofloxacine

Ciprofloxacine

Nitrofurantoine

Chloramphénicol

Tétracycline

INCUBATION : 37 °C en aérobiose 18 h

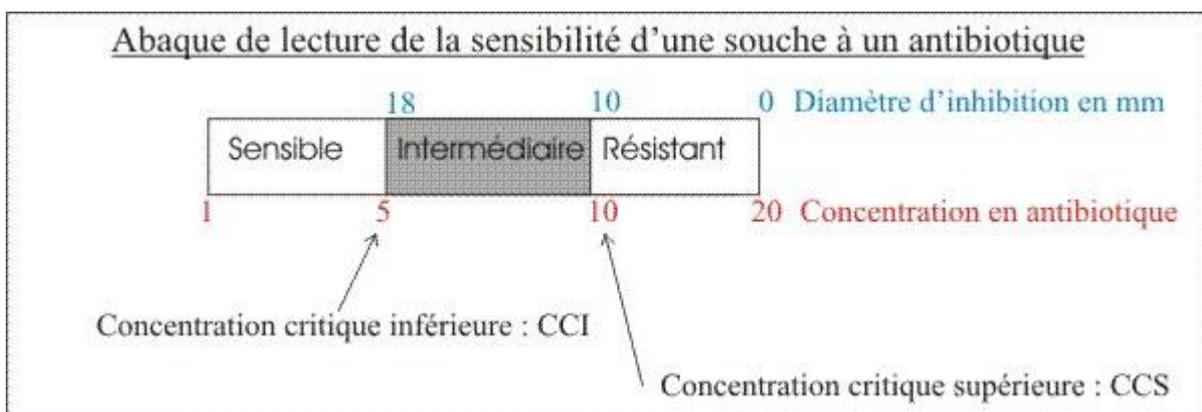
LECTURE

Lire le lendemain pour chaque antibiotique **les diamètres des zones d'inhibition**. Ces diamètres sont proportionnels à la sensibilité de la souche vis-à-vis de l'antibiotique.

La lecture est effectuée à l'aide du livret de la SFM.

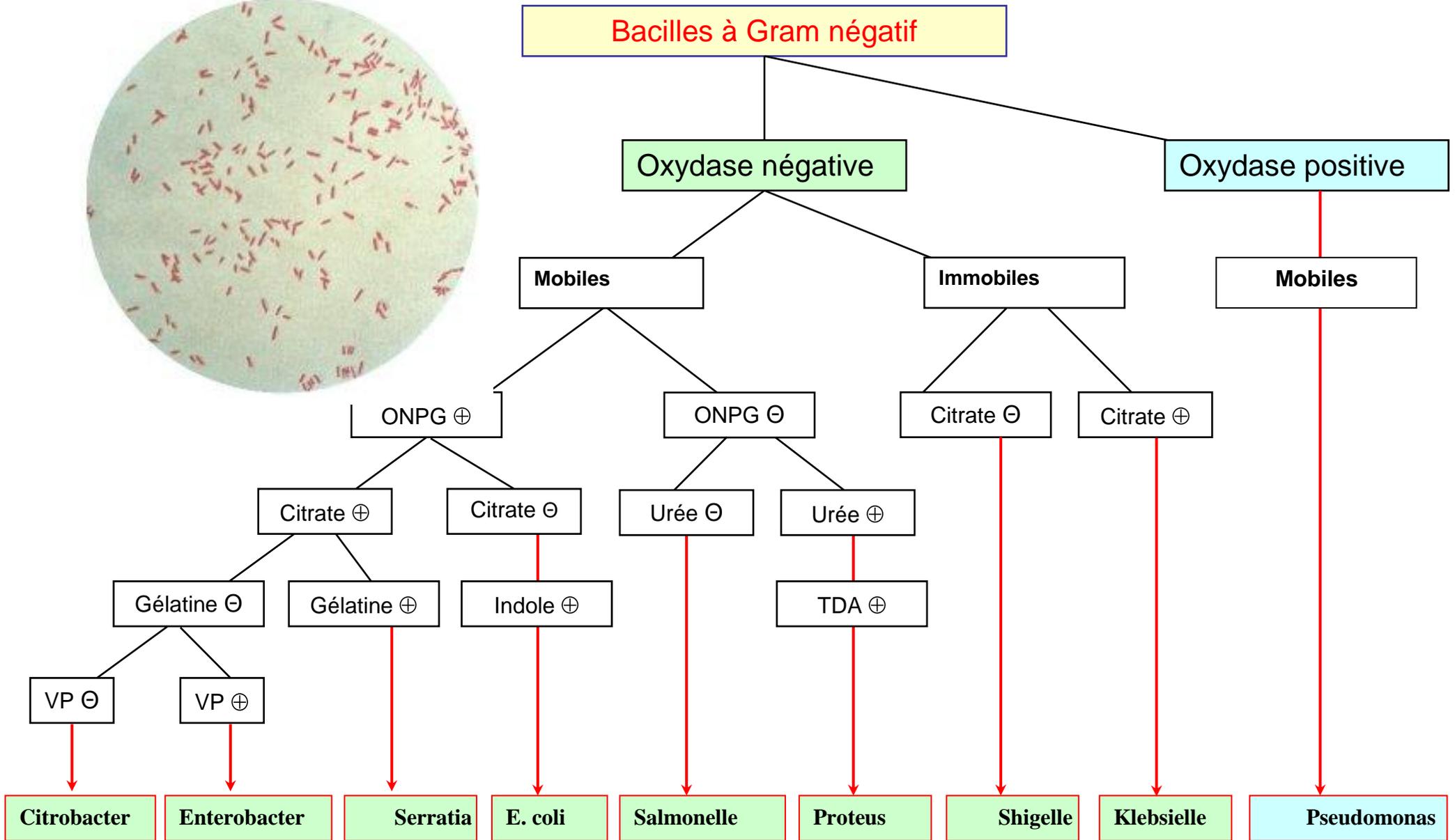
Chaque antibiotique dispose d'un abaque qui présente le rapport entre le diamètre de la zone d'inhibition de culture autour du disque et la concentration d'antibiotique.

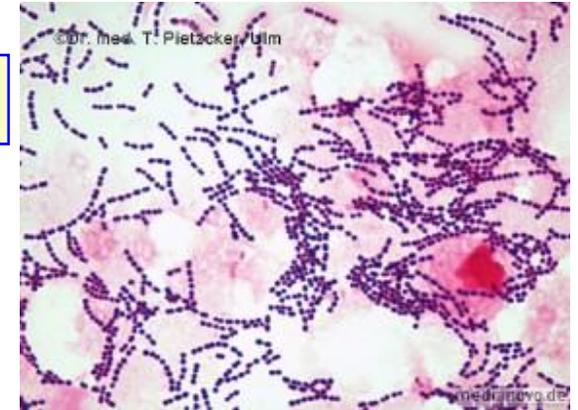
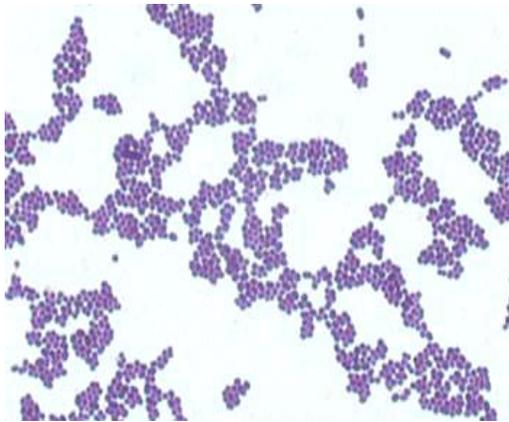
L'abaque permet de conclure sur l'efficacité ou non de l'antibiotique.



Concentration critique : Ces concentrations permettent de définir les catégories : **sensible, intermédiaire et résistant :**

- sensible: la CMI de l'antibiotique pour le germe étudié est plus faible que la concentration critique inférieure ($CMI < CCI$). Cet antibiotique peut être utilisé pour éliminer in vivo ce germe.
- germe de sensibilité intermédiaire : la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques ($CCI < CMI < CCS$)
- germe résistant : la CMI est supérieure à la concentration critique supérieure ($CMI > CCS$). Il n'est pas possible d'éliminer, in vivo, ce germe avec cet antibiotique.





COCCI A GRAM POSITIF

Groupement en amas

Groupement en chaînette

Groupement en Diplocoques et courtes chaînettes

Catalase ⊕

Catalase ⊖

Coagulase ⊖
Chapman ⊖

Coagulase ⊕
Chapman ⊕

Staphylocoque epiderm
(blanc)

Staphylocoque aureus
(doré)

Entérocoque

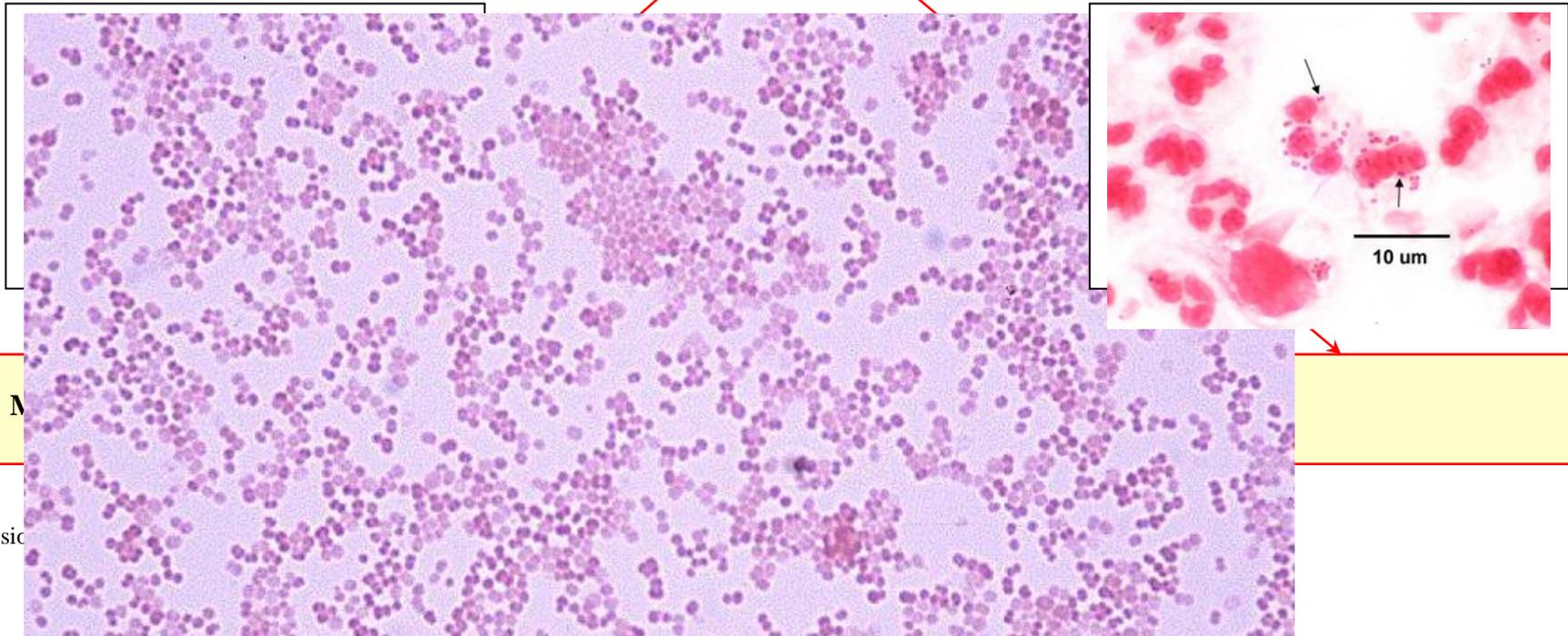
Streptocoque

Pneumocoque

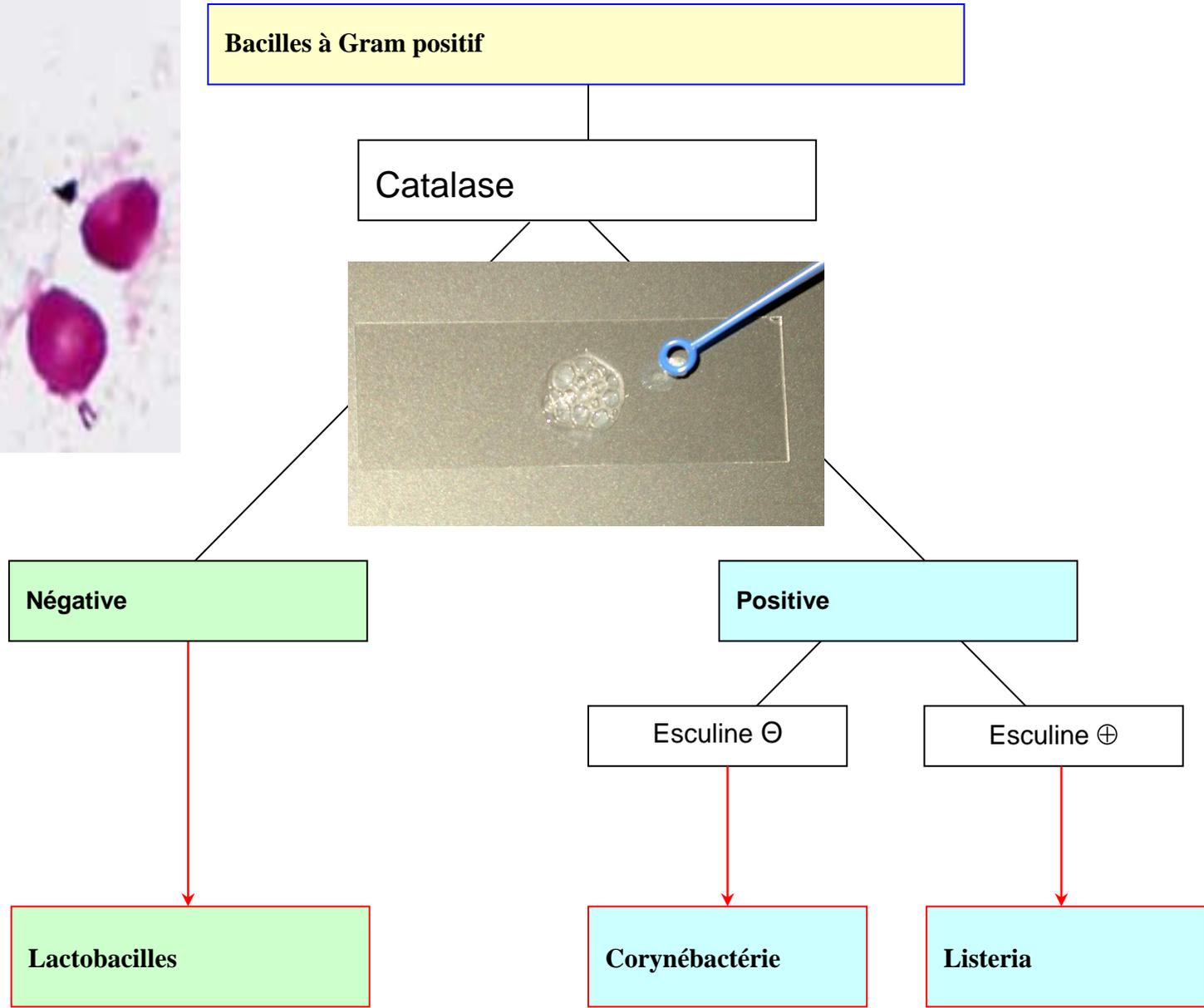
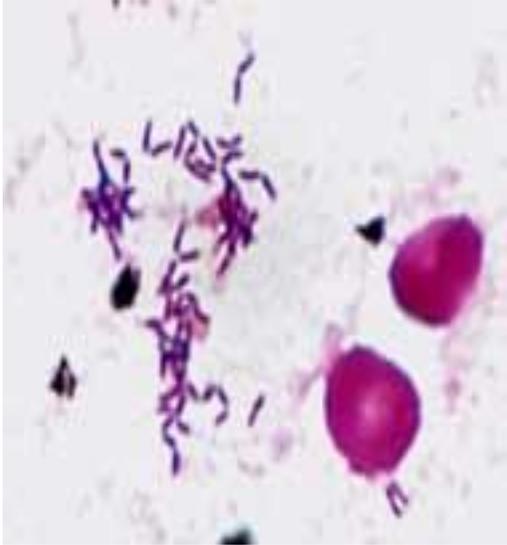
Cocci à Gram négatif



Oxydase \oplus



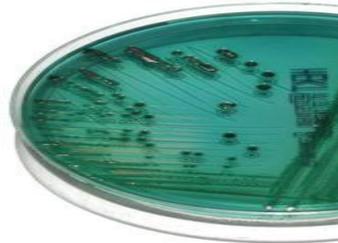
M



MILIEU HEKTOEN



Colonies lactose \oplus
(jaunes)



Colonies
Lactose \ominus ; H₂S \ominus
(vertes)

Suspicion de *Shigella* et *Salmonella*

Urée \oplus



Urée \ominus

API 10S
pour identification



Colonies
Lactose \ominus ; H₂S \oplus
(vertes avec centre noir)

Suspicion de *Salmonella*

Urée \oplus



Urée \ominus

API 10S
pour identification