

L'Examen Microscopique Direct de BAAR

Programme de formation en techniques de laboratoire

Ce programme de formation est le résultat de la collaboration des organisations suivantes.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

Union Internationale contre la Tuberculose
et les Maladies Respiratoires (UICTMR)

Centers for Disease Control and
Prevention (CDC), USA

Organisation Pan Américaine de la Santé (OPS)

Instituto Nacional de Diagnóstico y
Referencia Epidemiológicos (INDRE), Mexique

Association of Public Health Laboratories (APHL), USA

*Le contenu technique a
été développé par:*

Adalbert Laszlo, UICTMR

*Karen Weyer, South Africa Medical
Research Council (OMS)*

*Lucia Barrera, Instituto Nacional de Microbiología
“Dr. Carlos L. Malbrán,” Argentina (OPS)*

Susana Balandrano Campos, INDRE

John Ridderhof, CDC

Ron Smithwick, CDC

Ken Jost, Jr., Texas Department of Health (APHL)

Kajari Shah, APHL

Geri Lennon, Lennon International

July 2000

*Les documents audio-visuels ont été élaborés grâce au
soutien de Ramón Valdez Leal, Juan Felipe Hernández
Reboloso, María de los Angeles del Bosque Moncayo et
de toute son équipe au Laboratoire de Santé Publique de
l'état de Nuevo Leon, Monterrey, Mexique.*

Table des Matières

Introduction

Public-Cible et Description du Programme

Objectifs de l'Enseignement

Formation Technique et Images

L'Examen Direct Microscopique	2
Aménagement du Laboratoire	7
Collecte des Prévèlements et Manipulation	9
Registre de Laboratoire	14
Préparation des Frottis	15
Coloration des Frottis	21
L'Examen au Microscope	27
Enregistrement et Déclaration	32
Contrôle de Qualité dans le Laboratoire	34
Post-Test	38
Réponses au Post-Test	39

Introduction

Dans la plupart des régions du monde, l'examen microscopique direct pour recherche des bacilles acido-résistants (bacilloscopie) est l'outil de diagnostic principal pour la détection et la lutte contre la tuberculose (TB). La technique de Ziehl-Neelsen exécutée directement sur des échantillons d'origine pulmonaire est une méthode efficace pour détecter les cas de TB, pour apprécier la réponse au traitement et suivre les taux de guérison.

Outil crucial pour la lutte antituberculeuse, la bacilloscopie doit être exécutée correctement en utilisant des méthodes standardisées pour déterminer avec précision et répondre si un patient est positif ou négatif à l'examen des frottis d'expectorations.

Pour rendre ce diagnostic accessible à un nombre de patients aussi grand que possible, l'examen microscopique direct pour recherche des bacilles acido-résistants (BAAR) est exécuté dans beaucoup de laboratoires périphériques, ruraux et urbains.

Dans beaucoup de pays, les techniciens de laboratoire ne disposent que de très peu de documentation ou de cours de formation. Ce programme de formation vise à servir de guide au technicien de laboratoire en lui faisant la démonstration des techniques appropriées et des méthodes standardisées. Il n'a pas l'intention de remplacer les procédures et instructions détaillées développées dans un manuel de laboratoire pour bacilloscopie. Dès lors, ces outils de formation doivent être utilisés conjointement, soit avec le manuel de bacilloscopie du Programme National de TB (PNT), s'il existe, soit avec des manuels publiés par l'OMS et l'UICMR.

Public-Cible

Le programme de formation s'adresse aux techniciens de laboratoire qui exécutent ou supervisent la bacilloscopie, quel que soit le niveau de leur laboratoire.

Description du Programme

Ce programme vise à aider les techniciens de laboratoire dans l'exécution de la bacilloscopie. Le contenu du programme a pour dessein de servir de complément aux manuels de laboratoire grâce à la démonstration de techniques appropriées, en insistant sur les méthodes standardisées et en encourageants des lectures et déclarations conformes des résultats de l'examen des frottis.

Le contenu technique de ce programme de formation, qui a été développé par une équipe internationale d'experts, applique les méthodes et pratiques recommandées par l'OMS et l'UICMR.

Les multiples présentations de vidéo- ou audio-cassettes, brochure et diapositives sont fournies de manière à permettre l'utilisation du matériel de formation même si quelques appareils comme un vidéoscope ne sont pas disponibles. L'audiocassette est la piste sonore correspondant exactement à la vidéo. Les diapositives contiennent l'information et les images correspondant à la vidéo. La brochure contient également l'information et les images correspondant exactement à la vidéo et peut aider à la compréhension si la langue maternelle du technicien n'est pas celle de la vidéo.

La cassette-vidéo dure approximativement 30 minutes. Toutefois, vous pourrez si vous le désirez l'interrompre périodiquement, pour revoir la matière dans la brochure ou discuter les sujets avec vos collègues.

Nous avons inclus également un jeu-concours (quiz) pour aider le technicien à apprécier ce qu'il a retiré de la vidéo et des autres supports de formation.

Objectifs de l'Enseignement

Après avoir regardé la vidéo et/ou revu les autres supports de formation, le technicien sera apte à:

- Exécuter et fournir les réponses de la bacilloscopie en utilisant la méthode recommandée par l'OMS et l'UICMR.
- Comprendre les mesures de sécurité à prendre pour le recueil des expectorations et la préparation des frottis.
- Identifier les composantes du registre de laboratoire, de la fourniture des échantillons et des formulaires de déclaration.
- Identifier les pratiques usuelles en matière de préparation des frottis, de coloration et de lecture, afin d'augmenter la fiabilité et la précision de la bacilloscopie.
- Décrire les différentes raisons expliquant des résultats bacilloscopiques faussement positifs et faussement négatifs.

**“Une ancienne maladie tue aujourd’hui encore,
plus de gens que jamais.
La tuberculose, que l’on croyait disparue à tout
jamais, effectue un retour alarmant.
Nous sommes à un tournant.
Nous pouvons laisser l’épidémie mondiale de
tuberculose devenir plus mortelle.
Ou alors nous pouvons agir dès maintenant pour
réduire les souffrances et le nombre des victimes.
Nous sommes à un tournant.” ...**

G. Harlem Brundtland, M.D., Directeur, OMS 1998

A l’aube du 21^{ème} siècle, beaucoup de maladies continuent de menacer la santé des gens à travers le monde. Maladie à la fois ancienne et moderne, la tuberculose ne fait pas exception.

Plus de 8 millions de cas de tuberculose apparaissent chaque année. Et presque 2 millions de personnes en meurent.

Pauvreté et malnutrition entretiennent les maladies dans les pays du tiers-monde; migrations, guerres et catastrophes naturelles déclenchent des infections globales.

L’escalade globale de la tuberculose, la progression du SIDA et l’émergence de nouveaux cas de tuberculose résistant aux médicaments suscitent beaucoup d’inquiétudes.

Plusieurs agences internationales se consacrent au contrôle et à l’éradication de la tuberculose à travers le monde. Le diagnostic à un prix abordable est essentiel.

L'Examen Microscopique Direct de BAAR

Ce module d'enseignement porte essentiellement sur la technique de diagnostic de Ziehl-Neelsen pour l'examen microscopique direct des frottis d'expectoration.

Puisque la plupart des cas de tuberculose sont pulmonaires, la bacilloscopie directe des frottis d'expectoration est l'outil disponible le plus important pour le diagnostic de la tuberculose.

Il s'agit d'un diagnostic économique, rapide et simple. Qui plus est, il permet de détecter les cas les plus infectieux de tuberculose.

Le dépistage permet le traitement et la guérison, tout en interrompant la chaîne de transmission de la tuberculose.

Cette procédure permet aussi d'évaluer la réponse à la chimiothérapie et de surveiller le taux de guérison après traitement. La bacilloscopie directe de frottis d'expectoration a des aspects divers.

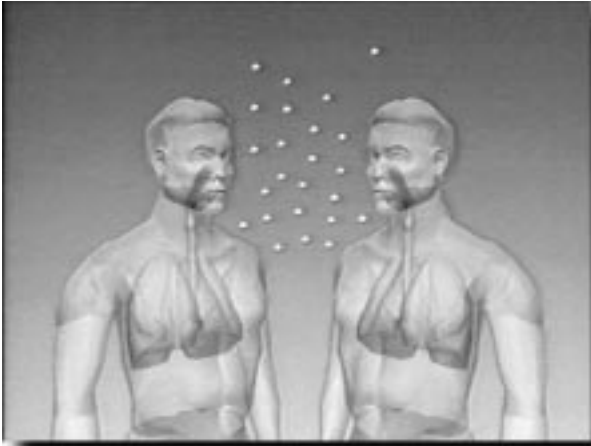
Parlons tout d'abord de la sécurité dans les laboratoires.

Les manipulations dans les laboratoires de tuberculose exigent un soin et des précautions spéciales.

Un bref aperçu des modes de transmission illustrera les dangers de la manipulation de ces microbes.

Mycobacterium tuberculosis

se propage à travers l'air d'une personne à une autre lorsqu'on tousse, éternue et même quand on chante ou on parle.



Des aérosols, minuscules particules contaminées, sèchent rapidement, ce faisant ils laissent des résidus dits noyaux, de moins de 5 microns de diamètre, porteurs de microorganismes tel le bacille tuberculeux.

Ces gouttes peuvent rester suspendues dans l'atmosphère pendant plusieurs heures. Une autre personne peut les inhaler et devenir infectée, surtout dans un espace restreint. Rappelez-vous qu'avec les précautions nécessaires, les risques de contracter la tuberculose en laboratoire sont très minimes.

Il est primordial que tout le personnel soit conscient des risques et agisse prudemment.

Le plus grand risque en laboratoire implique la collection déchantillons d'expectorations. La préparation des frottis offrent moins de risques au technicien de laboratoire que le contact direct avec une toux.

Puisque les patients de tuberculose sont parfois référés au laboratoire, des précautions doivent être prises pour minimiser le risque d'infection.



Il ne faut jamais recueillir les échantillon d'expectoration à l'intérieur de la clinique ou du laboratoire.

Il est plus prudent de les recueillir à l'extérieur



**Il faut, en tout temps, éviter la création
d'aérosols dans le laboratoire!
L'observation d'une routine journalière facilitera
le maintien de conditions sécuritaires.**

L'observation stricte des règles de sécurité est essentielle. Ces pratiques de sécurité incluent:

- Se laver les mains fréquemment, avant et après toute manipulation.
- Etablir un courant d'air dans les espaces de travail pour écarter les particules infectieuses loin du personnel. Ce courant d'air doit être dirigé vers un endroit extérieur écarté et peu fréquenté.
- Ne jamais fumer ou manger dans le laboratoire!
- Porter des blouses de laboratoire et utiliser des équipements de protection.

Les masques chirurgicaux n'offrent aucune protection contre la tuberculose.



L'utilisation de protection respiratoire efficace, tel le respirateur N95, est très chère et probablement inutile pour autant que le technicien effectue la technique convenablement.

Une manipulation prudente lors de la préparation des frottis réduit le risque d'infection.

Le faible risque que comportent ces manipulations ne justifie peut être pas le haut coût des respirateurs et des gants, alors que les ressources pour le contrôle de la tuberculose sont limitées.

Chaque pays doit évaluer les risques et décider du niveau de protection convenable et abordable.

Dans cette présentation, les techniciens ne portent ni gants ni masques. Se laver les mains et une manipulation soigneuse sont des pratiques acceptables dans la plupart des pays.



Rappelez-vous, la sécurité est essentielle, quelle que soit la tâche à accomplir.

Aménagement du Laboratoire

Pour exécuter la bacilloscopie, un laboratoire doit être divisé en trois espaces distincts:

Espace 1



un endroit bien illuminé avec un lavabo à eau courante pour la préparation et la coloration des frottis,

Espace 2



une table pour le microscope. Si l'électricité n'est pas disponible, cette table doit être placée directement devant une fenêtre, et

Espace 3



une table pour ranger les registres et pour la conservation des lames.

Collecte des Prélèvements



Deux types de récipients sont recommandés pour la collecte des expectorations:

Le premier est un récipient jetable à col large et couvercle vissant.

Il doit être fait de plastique transparent incassable et pouvoir se fermer hermétiquement pour empêcher l'échantillon de couler ou de se dessécher.

Le deuxième est un récipient connu sous le nom de "Universal container" à couvercle vissant, fait en verre solide qui peut être stérilisé, nettoyé et réutilisé.



Plusieurs pays utilisent leurs propres récipients.

L'enregistrement des échantillons



Il est très important d'identifier clairement les échantillons pour éviter les erreurs et les délais.

Un formulaire de requête doit accompagner chaque échantillon.

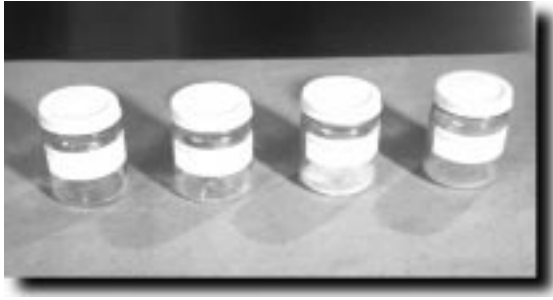
Les renseignements inscrits sur le formulaire doivent être les mêmes que ceux sur les crachoirs.

Il faut toujours identifier le crachoir sur sa paroi et non sur son couvercle.

Ecrivez le nom du suspect de tuberculose pulmonaire et la date de la collecte en utilisant un marqueur permanent.

Les Échantillons d'Expectoration

Pour une meilleure détection des bacilles tuberculeux, une collecte de trois échantillons est recommandée. Au moins un doit être un échantillon matinal.



Des instructions devront être données au patient de sorte qu'il produise une expectoration plutôt que de la salive.

De la salive claire, ou encore une sécrétion nasale, ne sont pas considérées comme des échantillons idéaux pour la tuberculose. Néanmoins ils devront être examinés. Des instructions spécifiques pour la collecte sont incluses dans le Manuel du Programme de Contrôle de la Tuberculose (PNT).

Un bon échantillon d'expectoration doit avoir un volume suffisant, de 3 à 5 ml. Il est fréquemment épais et muqueux, il peut aussi être fluide avec des débris de tissus morts. La couleur varie du blanc opaque jusqu'au vert. Les expectorations sanguinolentes sont rougeâtres ou brunâtres.

Notez l'aspect des expectorations sur le formulaire de demande d'examen.

Lavez-vous toujours



Lavez-vous toujours les mains après la manipulation d'échantillons et de crachoirs.

Transport des échantillons

Les échantillons devront être placés dans une boîte de transport et expédiés suivant les directives du PNT.

Manipulation des échantillons

Ouvrez la boîte de transport avec précaution, et assurez-vous qu'aucun crachoir n'est ni fêlé ni brisé.

Jetez tout crachoir brisé et demandez un autre échantillon.

Tous les échantillons doivent correspondre à la liste des suspects de tuberculose.

Une fois vérifiée, notez toute information pertinente sur **le registre de laboratoire.**

Les registres de laboratoire

Les registres de laboratoire de l’OMS ou de l’Union Internationale (l’UICMR) sont vivement recommandés. Ne modifiez pas le format de ces registres.



Les renseignements pour chaque échantillon doivent être complets, précis et inclure:

- ◆ **le numéro de série du laboratoire**
- ◆ **la date de réception**
- ◆ **le nom, le sexe, l’âge et l’adresse du patient**
- ◆ **le nom de l’institution de santé**
- ◆ **la raison de l’examen (soit pour diagnostic, soit pour le suivi du traitement)**

Inscrivez le numéro correspondant sur le crachoir.

Préparation des frottis

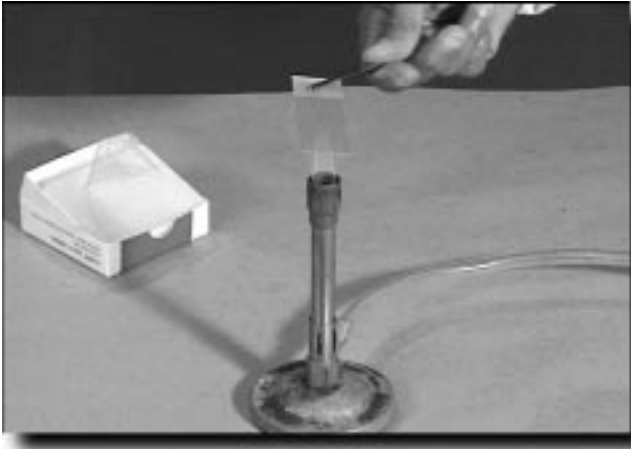
Pour assurer le déroulement sécuritaire et logique des manipulations, rangez instruments et matériel sur la table, toujours de la même façon.



Les instruments et matériel suivants sont essentiels:

- ◆ **Des pinces,**
- ◆ **un marqueur ou un crayon à mine,**
- ◆ **des applicateurs en bois ou une anse métallique,**
- ◆ **un flacon contenant du sable et de l'alcool,**
(si l'on utilise une anse métallique),
- ◆ **un récipient pour matériel septique avec**
désinfectant,
- ◆ **un bec Bunsen ou une lampe à alcool,**
- ◆ **une boîte de lames neuves, et**
- ◆ **des crachoirs.**

Il faut toujours utiliser des lames neuves pour la préparation des frottis. Elles doivent être nettoyées avec de l'alcool et séchées en les essuyant... ou encore, passées brièvement à la flamme.



Ce qui éliminera tout résidu huileux qui pourrait affecter la coloration.

NE REUTILISEZ JAMAIS des lames de frottis d'expectorations pour le travail de tuberculose!

Marquez correctement chaque lame



Marquez correctement chaque lame avec le numéro du laboratoire et de l'échantillon. Gravez ces numéros à l'aide du diamant-marqueur sur l'extrémité de la lame.

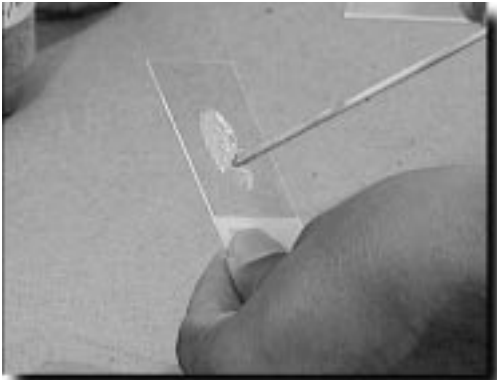


Si l'extrémité des lames est dépolie, marquez le numéro de série du laboratoire avec un crayon à mine.

N'utilisez jamais le crayon gras puisque l'écriture pourrait s'effacer lors de la coloration.

**Ouvrez le crachoir lentement
pour éviter les aérosols.**

En utilisant un applicateur en bois ou bien une anse métallique, prélevez des portions de l'expectoration pour l'examen. Des particules solides caséuses produisent souvent le plus grand nombre de bacilles. En effectuant une rotation continue, étalez une surface ovale sur la lame, d'à peu près 2 cm de longueur. N'étalez qu'un seul frottis sur chaque lame.

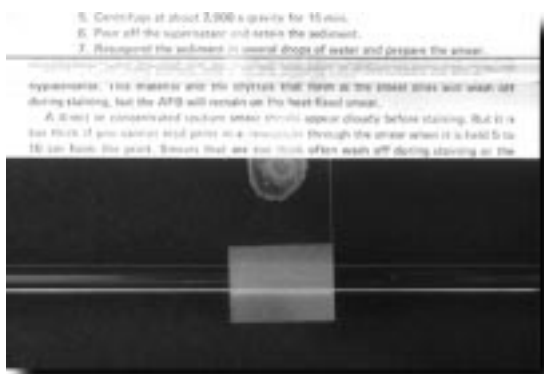
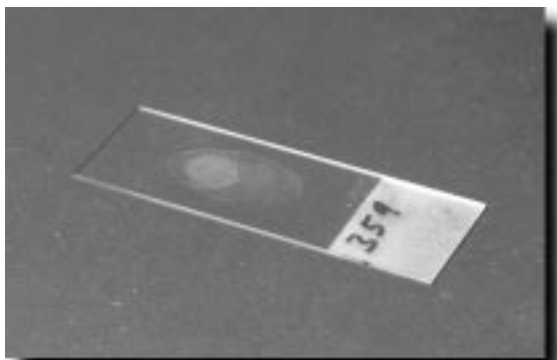


**Applicateur
en bois**

**Anse
métallique**



Comment saurez-vous si l'épaisseur est correcte?



Si le frottis est trop mince, l'échantillon peut donner des résultats faux-positifs.

S'il est trop épais, le frottis pourrait se détacher de la lame pendant la coloration.

Si l'épaisseur est correcte, on peut lire un journal derrière une tache sèche.

Si une anse métallique est utilisée, nettoyez-la avant de l'utiliser. Trempez l'anse contaminée dans un flacon contenant de l'alcool et du sable et détachez les adhérences par des mouvements verticaux. Ensuite, chauffez l'anse dans la flamme jusqu'à ce qu'elle devienne rouge incandescente. Laissez-la refroidir avant la prochaine utilisation.

Des lames mouillées peuvent créer des aérosols si on les déplace. Placez-les dans un endroit protégé où elles pourront sécher pendant 15 à 30 minutes.

**NE LES CHAUFFEZ JAMAIS pour les sécher,
car cela pourrait produire des aérosols.**

Lorsque quelles seront sèches, fixez les lames avec la flamme bleue d'un bec Bunsen.

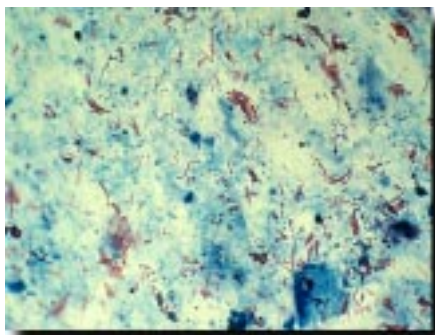
Avec des pinces, passez la lame brièvement 3 fois à la flamme, le frottis tourné vers le haut.



La fixation par la chaleur assure que l'expectoration colle à la lame. Une chaleur excessive peut endommager les bacilles. Par contre, si la chaleur n'est pas assez forte, les bacilles peuvent se détacher pendant la coloration.

Coloration de Frottis

Parce que les bacilles de la tuberculose retiennent leur coloration primaire même après le traitement aux solutions acides concentrées, on les appelle acido-résistants. Dans la méthode de coloration de Ziehl-Neelsen qui utilise la fuschine phéniquée et le bleu de méthylène, les organismes acido-résistants sont colorés en rouge.



Apprêtez l'espace du laboratoire destiné à la coloration.

Placez les articles suivants sur le comptoir près de l'évier: Les solutions colorantes, une horloge, les pinces, un récipient pour le goupillon imbibé d'alcool ou un bec Bunsen et un plateau pour les lames fixées. Une grille porte-lames doit être placée sur l'évier.



Pour assurer qualité et uniformité, beaucoup de pays produisent les réactifs dans un laboratoire central.

Pour de plus amples renseignements, consultez les manuels de l’OMS et de l’Union Internationale (l’UICMR).

Les réactifs de référence sont:

- La fuschine phéniquée
- une solution décolorante d’acide-alcool ou d’acide sulfurique
- Le contre-colorant au bleu de méthylène

Tous les réactifs doivent avoir une date de fin de validité. Éliminez tout réactif échu.

Filtrez la fuschine phéniquée avant de l’utiliser. Si un précipité est encore détectable, éliminez le colorant.

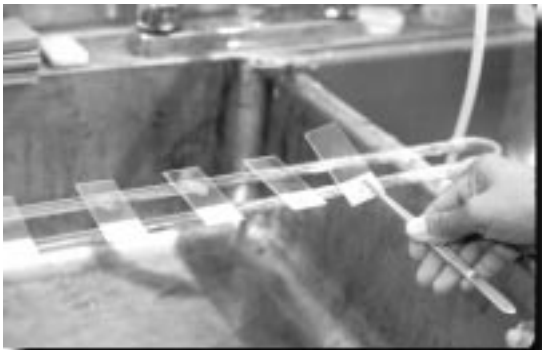


La marche à suivre pour la technique de coloration doit être affichée au mur au dessus de l'évier.



Pour éviter la contamination transferée, n'effectuez jamais cette manipulation en série dans des bacs à coloration. Maintenant, étudions les étapes importantes de la technique de coloration.

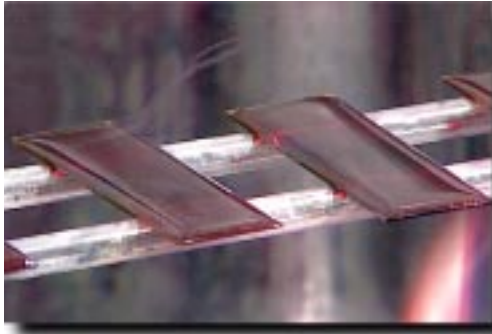
A l'aide des pinces placez les lames sur le porte-lames, frottis tournés vers le haut. Orientez toutes les lames uniformément.



Les lames ne doivent jamais se toucher car il y aurait risque de contamination transferée. Pour le contrôle de qualité, incluez quotidiennement un contrôle positif et un négatif.

Ne colorez jamais plus de 12 lames à la fois.

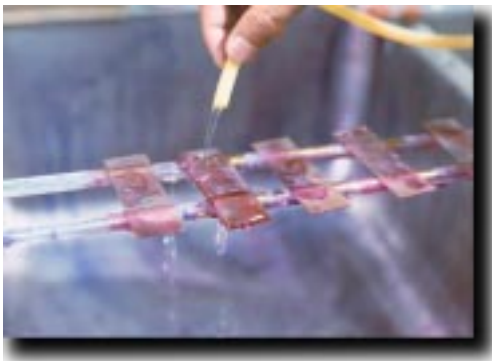
Couvrez la surface entière de chaque lame avec de la fuschine phéniquée. Utilisez la flamme d'un bec Bunsen ou celle d'un goupillon imbibé d'alcool à brûler pour chauffez légèrement les lames jusqu'à l'émission de vapeur.



En aucun cas, le colorant ne doit bouillir ou se dessécher sur la lame. L'ébullition pourrait modifier la morphologie des bacilles de la tuberculose ce qui pourrait mener à des de faux résultats.

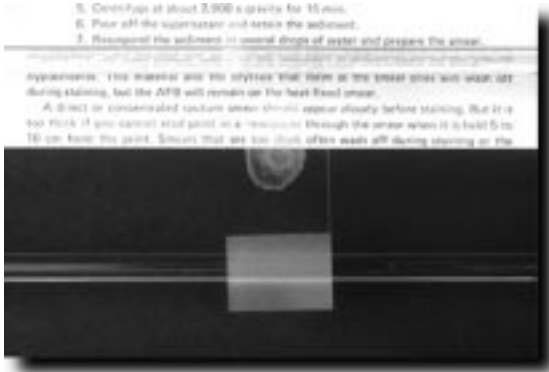
Laissez agir le colorant chaud pendant 5 minutes. Conservez la chaleur pendant cette période. Le temps nécessaire pour que la fuschine phéniqué pénètre et colore la paroi cellulaire.

Rincez doucement à l'aide d'un filet d'eau froide jusqu'à ce que tout le colorant libre soit entraîné. Soyez prudent en rinçant pour que l'eau ne détache pas le frottis de la lame.



Inclinez les lames une à une pour en égoutter l'eau.

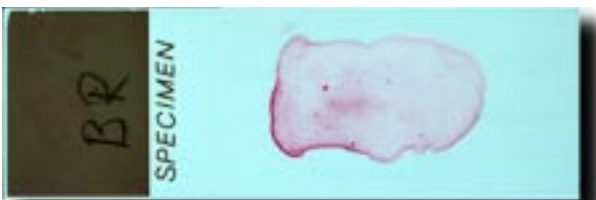
Ceci élimine l'eau résiduelle qui pourrait diluer le prochain réactif. Couvrez chaque lame avec une solution décolorante, tel l'alcool-acide.



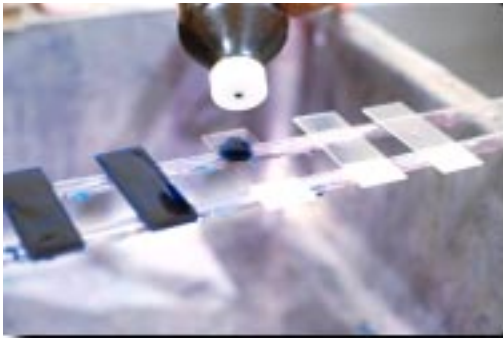
Laissez le décolorant sur la lame pendant 3 minutes.

Si la lame n'est pas suffisamment décolorée, des éléments autres que les bacilles tuberculeux présents dans l'expectoration pourraient retenir la coloration, ce qui pourrait causer des résultats faux-positifs.

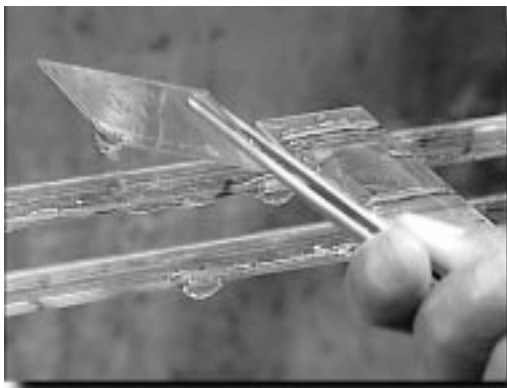
Rincez les lames de nouveau soigneusement et inclinez les une à une pour les faire égoutter. Si la lame reste encore rose, rajoutez du décolorant pendant 1 à 3 minutes.



Contre-colorez ensuite au bleu de méthylène pendant 1 minute.



Rincez encore doucement avec un filet d'eau, et inclinez les une à une pour les faire égoutter.



Finalement, inclinez chaque lame et placez-les sur un porte-lame pour les sécher.

Ne pas sécher au papier buvard.

Après coloration nettoyez, s'il le faut, le verso de chaque lame avec une serviette en papier imbibée d'alcool. N'examinez pas les lames avant qu'elles ne soient complètement sèches.

Couvrez les lames pour les protéger de la lumière du soleil qui pourrait décolorer les BAARs.

L'Examen au Microscope

Un microscope binoculaire de bonne qualité est recommandé pour examiner les frottis colorés.



Il doit être équipé d'une source de lumière électrique ainsi que d'un miroir, d'un objectif à immersion, magnification 100 fois, d'oculaires de grossissement 8-10X et d'une platine porte-objets.

L'entretien et le nettoyage quotidien sont essentiels pour éviter la poussière, l'accumulation d'huile et l'humidité. La lecture des lames s'effectue de préférence dans un endroit avec lumière tamisée.

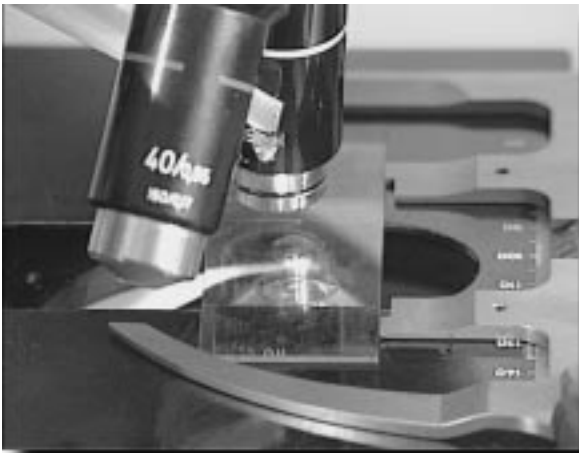
Par contre, s'il n'y a pas d'électricité, on utilise la lumière du jour comme source de lumière et le microscope devra donc être placé devant une fenêtre.

Placez les articles suivants près du microscope:

Un flacon d'huile à immersion, du solvant organique, du papier pour le nettoyage des objectifs, un registre de laboratoire et une boîte de rangement pour les lames examinées.

Utilisez un objectif de magnification 40 fois pour la mise au point et choisissez un endroit approprié sur la lame.

Déposez une goutte d'huile d'immersion sur le frottis coloré. Laissez tomber une goutte sur la lame.



**Ne touchez jamais la lame avec l'applicateur d'huile.
Ceci pourrait causer une contamination transférée
sur la prochaine lame.**

Faites basculer le porte-objectifs pour mettre en place l'objectif de magnification 100 fois. Ensuite, abaissez lentement l'objectif de magnification 100 fois jusqu'au ras de la lame dans la goutte d'huile. L'objectif ne doit jamais toucher la lame. Ceci pourrait endommager l'objectif et même briser la lame.

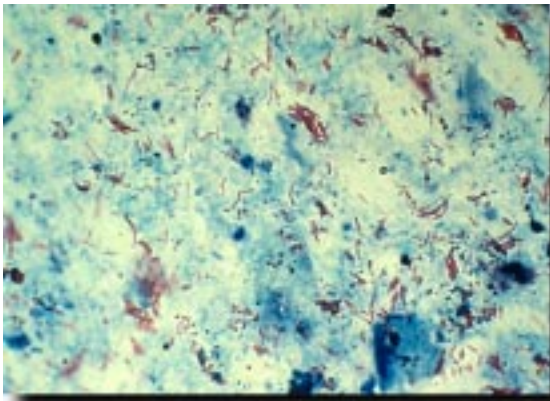
Tout en regardant dans les oculaires, ajustez l'objectif et mettez-le au point jusqu'au moment où l'image de la préparation apparaît.

Terminez la mise au point à l'aide de la vis micrométrique.

Examinez au moins 100 champs microscopiques avant de déclarer une lame négative. L'examen de moins de 100 champs peut causer un résultat faux-négatif. Si la lame est positive vous pouvez lire moins de 100 champs.

Lisez systématiquement pour éviter tout chevauchement et déplacez la lame dans le sens de la longueur, pour examiner le champ suivant.

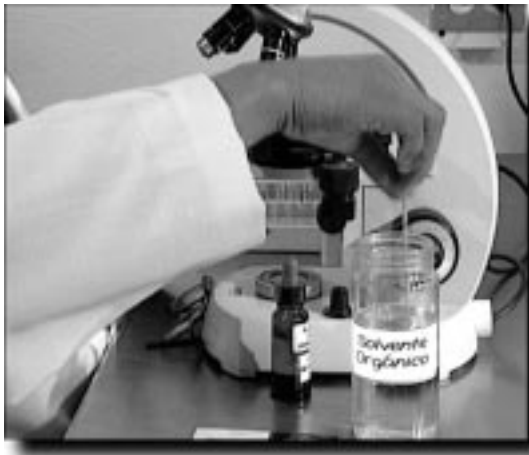
Les bacilles tuberculeux apparaissent comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés, granuleux, isolés, par paires ou en amas, se détachant nettement sur le fond bleu de la préparation.



Comptez le nombre de BAARs par champ et notez ce nombre sur le rapport de laboratoire.

Après avoir examiné la lame minutieusement, enlevez-la de la platine du microscope.

Vérifiez de nouveau le numéro d'identification gravé sur la lame et notez les résultats immédiatement dans le registre du laboratoire.



A la fin de l'examen, enlevez l'huile de la lame.

Lorsque sèches, placez soigneusement les lames dans une boîte de rangement pour le transfert à un laboratoire de contrôle de qualité.

Ceci doit être fait régulièrement comme le stipulent les directives du PNT.



Avant d'examiner la lame suivante, essuyez la lentille d'immersion avec du papier spécial pour nettoyer les objectifs. Ceci évitera la contamination transférée qui pourrait causer des résultats faux-positifs.

Manipulez les échantillons très prudemment!

Tous les échantillons d'expectoration doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Gardez tous les échantillons jusqu'à ce que les frottis aient été examinés et enregistrés.

Ensuite, stérilisez et jetez-les.

Les crachoirs jetables ne doivent être utilisés qu'une seule fois.

L'Évacuation des Échantillons

- Ébullition
- Autoclavage
- Incinération

Enregistrement et Déclaration

Il est très important que les résultats de tous les examens microscopiques soient notés correctement dans le registre du laboratoire de tuberculose. Pour une référence rapide marquez les résultats positifs en rouge.

Si l'on trouve des BAARs, notez vos observations "frottis BAAR positif." Ces patients sont infectieux et doivent être pris en charge et traités avec un régime efficace.

Les examens microscopiques et les déclarations devraient s'effectuer dans les délais les plus brefs, préférablement dans les 24 heures ou moins.

Méthodes recommandées par l'OMS et l'Union Internationale (l'UICMR) pour l'enregistrement des résultats:

Négatif: Déclarez: 'BAAR négatif' ou aucun organisme observé sur 100 champs.

**Positif: Déclarez: 'BAAR positif.'
Inscrivez le nombre de BAARs.**

Le nombre d'BAAR observé est une indication du degré de contagiosité et de la gravité de la maladie. Les résultats doivent être quantifiés.

L'échelle semi-quantitative suivante est recommandée pour la méthode de coloration de Ziehl-Neelsen:

- ◆ **Si aucun BAAR n'est observé dans 100 champs, notez: aucun BAAR observé.**
- ◆ **Si 1 à 9 BAARs sont observés dans 100 champs, notez le nombre exact.**
- ◆ **Si 10 à 99 BAARs sont observés dans 100 champs, notez 1+.**
- ◆ **Si 1 à 10 BAARs sont observés par champ, notez 2+.**
- ◆ **Si plus de 10 BAARs sont observés par champ, notez 3+.**

Inscrivez dans votre rapport les renseignements suivants :

- ◆ **L'évaluation de la qualité de l'échantillon**
- ◆ **La méthode de coloration utilisée**
- ◆ **Les résultats de l'examen**
- ◆ **La date de l'examen**
- ◆ **La signature du technicien**

En plus des bacilles tuberculeux, il existe beaucoup d'autres espèces de mycobactéries. N'essayez-pas de les identifier à l'aide d'un microscope; notez seulement le nombre.

Après avoir complété le rapport de laboratoire, envoyez-le au centre de santé qui y donnera suite.

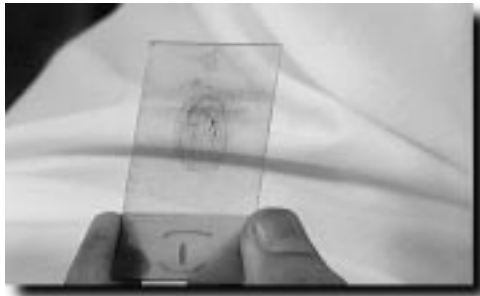
Contrôle de Qualité Dans Le Laboratoire de Tuberculose

La contrôle de qualité (QC) devrait toujours être effectué dans le laboratoire pour assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats.



Effectuez un contrôle de qualité sur chaque nouveau lot de colorants. Tenez compte de ces résultats avant de lire les lames d'un patient. Cette activité importante fournira la preuve d'exactitude de la méthode de coloration et du fonctionnement du microscope.

Lorsque les contrôles révèlent une coloration inadéquate, déterminez-en la cause et corrigez-la.



Si le contrôle négatif reste rouge après la coloration ceci pourrait être le résultat d'une décoloration incomplète.

Si la lame du contrôle positif ne montre pas de BAARs, soit que les réactifs sont défectueux, soit que la procédure a été effectuée incorrectement. Lorsque le problème a été identifié et corrigé, répétez la coloration avec des lames et des contrôles nouveaux.

Chaque phase de la bacilloscopie doit être effectuée prudemment. Une erreur à n'importe quelle étape peut mener à de faux résultats.

Voici quelques causes menant à des résultats faux-positifs:

- ◆ **Des erreurs dans la manipulation des échantillons ou dans l'enregistrement de résultats.**
- ◆ **La réutilisation des crachoirs ou celle des lames positives.**
- ◆ **De la fuschsine phéniquée non-filtrée.**
- ◆ **De l'huile d'immersion contaminée et**
- ◆ **Une décoloration inadéquate.**

Voici quelques causes menant à des résultats faux-négatifs:

- ◆ **Des erreurs dans la manipulation d'échantillons ou dans l'enregistrement des résultats.**
- ◆ **Des expectorations de mauvaise qualité.**
- ◆ **Une décoloration excessive.**
- ◆ **Une lecture de moins de 100 champs microscopiques.**

Un rapport erroné peut avoir des résultats désastreux!!

Si un résultat faux-positif est enregistré, le patient sera pris en charge inutilement.

S'il s'agit d'un examen de suivi, le traitement sera allongé.

Des médicaments coûteux seront gaspillés et malheureusement le patient et sa famille pourront subir un choc émotif grave.

Aussi, les patients pourront perdre confiance dans le traitement.

Si, par contre, un résultat faux-négatif est enregistré, une autre série d'événements catastrophiques peut se déclencher.

- Le patient atteint de tuberculose ne sera pas pris en charge.
- S'il s'agissait d'un examen de suivi, la phase intensive de la thérapie ne serait pas continuée, ce qui menerait à un traitement inadéquat.

Ceci peut causer des souffrances supplémentaires, la propagation de la tuberculose aux membres de la famille et à la communauté et même la mort du patient.

La fiabilité des résultats à chaque pas est essentielle au bien-être et à la santé de beaucoup de personnes.

En tant que membre de la campagne globale pour le contrôle de cette redoutable maladie, le rôle du technicien de laboratoire est aussi important que celui de n'importe quel autre membre de l'équipe de contrôle de la tuberculose.

Pour que d'importants programmes de contrôle et de prévention à travers le monde réussissent, la bacilloscopie, un maillon critique dans la chaîne du contrôle de la tuberculose, doit être fiable.

Nous sommes à un tournant...

Post Test

1. Quel est le facteur entraînant le danger le plus important dans une polyclinique pratiquant la bacilloscopie?
2. Faites la liste de plusieurs mesures de sécurité à utiliser au cours de la bacilloscopie.
3. Décrivez ce qu'est un bon échantillon d'expectoration.
4. Que faut-il faire avec des crachoirs fêlés ou brisés?
5. Décrivez la dimension et l'épaisseur qui s'imposent pour un frottis.
6. Pourquoi faut-il laisser une lame sécher à l'air avant de la fixer à la chaleur?
7. Comment pouvez-vous savoir si la fuchsine pheniqué est chauffée correctement?
8. Comment pouvez-vous déterminer qu'une lame est trop peu décolorée?
9. Combien de champs microscopiques devez-vous examiner avant de déclarer une lame comme négative pour BAAR?
10. Quand des lames de contrôle, positives et négatives, sont-elles préparées?

Réponses au Post-Test

1. *La production d'aérosols.*
2. *Prélevez les échantillons à l'extérieur; lavez vous les main fréquemment; veillez à ne pas produire des aérosols; renoncez à fumer et à manger au laboratoire; utilisez l'équipement et les vêtements protecteurs en fonction des nécessités.*
3. *3 à 5 ml; épais et muqueux; il peut être liquide et contenir des débris de tissus nécrosés; blanc opaque à vert; les échantillons sanguinolents peuvent être rougeâtres ou bruns.*
4. *Placez les soigneusement dans une poubelle pour rebuts et sollicitez un nouvel échantillon.*
5. *Un frottis ovale de 2 cm assez mince pour permettre la lecture d'un journal par transparence.*
6. *Pour éviter la production d'aérosols.*
7. *Il y a vapeur mais non ébullition.*
8. *Il reste rose.*
9. *100 champs.*
10. *A chaque série de coloration.*

L'utilisation de marque de commerce est pour identification seulement et ne constitue en aucun cas un l'endossement par l'APHL, ou par l'US Department of Health and Human Services, CDC, OMS, OICTMR, OPS, INDRE.

Nous remercions les individus et les organisations suivantes:

Phillip Connolly, GlaxoWellcome, et Paul Ellis Associates, UK, pour permission d'utiliser les segments vidéo: "1 in 3" video.

Laura Godfrey et Organisation Pan Américaine de la Santé pour l'utilisation des segments de formation OPS.

Cheryl Tryon et Bereneice Madison pour la microscopie vidéo et graphismes.

Un grand merci à: René Bach, Sarah Bellem, Jim Boltman, Ed Desmond, Leslie Parrish, Pat Proud, and Graciela Zuñiga Groot pour les conseils techniques.

La déclaration d'ouverture est extraite de "TB: A Crossroads"
G. Harlem Brundtland, M.D., Directeur OMS, 1998

Cette presentation vidéo a été produite par l'Association of Public Health Laboratories selon l'Accord de Coopération #U60/CCU303019-12 en collaboration avec le Centers for Disease Control and Prevention.

Toutes les précautions ont été prises pour reconnaître les droits d'auteur.