

## TABLE DES MATIERES

|   |           |
|---|-----------|
| <b>HYGIENE ET SECURITE</b>  | <b>7</b>  |
| DEVENIR DES CONSOMMABLES JETABLES ET REUTILISABLES                    | 7         |
| STÉRILISATION A LA VAPEUR DU MATÉRIEL                                 | 7         |
| STÉRILISATION PAR LA CHALEUR HUMIDE                                   | 8         |
| UTILISATION DE L'EAU DE JAVEL   | 9         |
| LES POUBELLES AU LABORATOIRE  | 10        |
| PROTECTION VACCINALE DU TECHNICIEN OU DU BIOLOGISTE                   | 10        |
| PROTECTION PENDANT LES MANIPULATIONS                                  | 11        |
| LAVAGE DES MAINS  | 12        |
| NETTOYAGE DU LABORATOIRE  | 12        |
| <b>DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE PARASITOSE</b>                         | <b>13</b> |
| EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES SELLES                                     | 13        |
| EXAMEN PARASITOLOGIQUE DU SANG  | 14        |
| EXAMEN PARASITOLOGIQUE DU LCR   | 14        |
| EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES URINES                                     | 14        |
| EXAMEN PARASITOLOGIQUE DE LA PEAU, DES MUQUEUSES ET DU DERME          | 14        |
| <b>CHAMPIGNONS ET LEVURES</b>   | <b>15</b> |
| ASPERGILLOSES   | 15        |
| DIAGNOSTIC D'UNE CANDIDOSE  | 17        |
| DIAGNOSTIC D'UNE CRYPTOCCOSE  | 18        |
| DERMATOPHYTOSES   | 19        |
| DIAGNOSTIC D'UNE HISTOPLASMOSE  | 20        |
| MYCETOMES (PIED DE MADURA)  | 21        |
| MYCOSES OU AFFECTIONS CUTANÉES RARES                                  | 22        |
| DIAGNOSTIC D'UNE PNEUMOCYSTOSE  | 24        |
| DIAGNOSTIC D'UN PYTIRIASIS VERSICOLOR                                 | 25        |
| <b>INSECTES PATHOLOGIQUES, MALADIES VÉHICULÉES, INSECTES VECTEURS</b> | <b>26</b> |
| DIAGNOSTIC DE LA GALE   | 26        |
| DIAGNOSTIC D'UNE PÉDICULOSE ET D'UNE PHTIRIASE                        | 27        |
| DIAGNOSTIC DES INFECTIONS PAR TIQUES, PUCES ET MYIASES                | 28        |
| INSECTES PIQUEURS VECTEURS DE MALADIES                                | 29        |
| MALADIES VÉHICULÉES PAR LES POUX, LES PUCES ET LES TIQUES             | 31        |
| <b>PROTOZOAIRE</b>  | <b>34</b> |
| DIAGNOSTIC D'UNE AMIBIASE   | 34        |
| BALANTIDIOSE  | 37        |
| DIAGNOSTIC D'UNE BLASTOCYSTOSE  | 37        |
| DIAGNOSTIC D'UNE CHILOMASTIOSE  | 38        |
| DIAGNOSTIC D'UNE COCCIDIOSE   | 39        |
| DIAGNOSTIC D'UNE ISOSPOROSE   | 39        |
| DIAGNOSTIC D'UNE CRYPTOSPORIDIOSE                                     | 40        |
| DIAGNOSTIC D'UNE CYCLOSPOROSE   | 40        |
| DIAGNOSTIC D'UNE SARCOCYSTOSE   | 41        |

|   |    |
|---|----|
| GIARDIASE ou LAMBLIASE                            | 42 |
| DIAGNOSTIC D'UNE LEISHMANIOSE                     | 43 |
| DIAGNOSTIC D'UNE MICROSPORIDIOSE                  | 45 |
| DIAGNOSTIC D'UN ACCÈS PALUSTRE                    | 46 |
| DIAGNOSTIC D'UNE TRYPANOSOMIASE HUMAINE AFRICAINE | 48 |

## **HELMINTHES** **49**

|   |    |
|---|----|
| DIAGNOSTIC D'UNE ANGUILLULOSE                     | 49 |
| DIAGNOSTIC D'UNE ANKYLOSTOMOSE                    | 50 |
| DIAGNOSTIC D'UNE ASCARIDIOSE                      | 52 |
| DIAGNOSTIC D'UNE BILHARZIOSE                      | 53 |
| DIAGNOSTIC D'UNE CYSTICERCOSE                     | 55 |
| DIAGNOSTIC D'UNE DISTOMATOSE                      | 56 |
| DIAGNOSTIC D'UNE FILARIOSE LYMPHATIQUE            | 58 |
| DIAGNOSTIC DES LOASES                             | 60 |
| DIAGNOSTIC DES ONCHOCERCOSES                      | 61 |
| DIAGNOSTIC D'UNE TÉNIASE ET D'UNE TRICHOCÉPHALOSE | 63 |

## **DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE PATHOLOGIE HÉMATOLOGIQUE** **64**

|   |    |
|---|----|
| PARTICULARITES HEMATOLOGIQUES EN AFRIQUE NOIRE                            | 64 |
| LIGNÉES SANGUINES   | 65 |
| DIAGNOSTIC D'UNE ANÉMIE   | 68 |
| DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE MORPHOLOGIQUE DES HEMATIES                      | 70 |
| DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE DE L'HÉMOGLOBINE                                | 74 |
| DIAGNOSTIC D'UNE DRÉPANOCYTOSE  | 74 |
| DIAGNOSTIC D'UNE THALASSÉMIE  | 75 |
| DÉFICIT EN G6PD   | 76 |
| DIAGNOSTIC D'UNE HÉMOLYSE ET DE SES CAUSES                                | 77 |
| EXPLORATION DES LEUCOCYTOSES ET DES LEUCOPÉNIES                           | 78 |
| DIAGNOSTIC D'UNE HÉMOPATHIE MALIGNNE                                      | 80 |
| DIAGNOSTIC D'UNE PATHOLOGIE DE L'HÉMOSTASE                                | 84 |
| DIAGNOSTIC D'UNE THROMBOPÉNIE, D'UNE THROMBOCYTOSE OU D'UNE THROMBOPATHIE | 85 |

## **DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE INFECTION** **86**

|  |     |
|--|-----|
| DIAGNOSTIC D'UNE MÉNINGITE                     | 87  |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION URINAIRE            | 89  |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION CUTANÉE             | 90  |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION ORL ET RESPIRATOIRE | 92  |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION GENERALISEE         | 92  |
| DIAGNOSTIC D'UNE MST                           | 93  |
| DIAGNOSTIC D'UNE TREPONEMATOSE                 | 95  |
| DIAGNOSTIC D'UNE GONOCOCCIE                    | 99  |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION VAGINALE            | 100 |
| DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION URÉTRALE            | 103 |
| VIRUS RESPONSABLES DES FIEVRES HEMORRAGIQUES   | 103 |

## **LE VIH AU LABORATOIRE** **104**

|  |     |
|--|-----|
| DIAGNOSTIC DU SIDA   | 105 |
| COMPLICATIONS PARASITAIRES AU COURS DU SIDA  | 106 |
| COMPLICATIONS FUNGIQUES AU COURS DU SIDA   | 107 |
| COMPLICATIONS BACTERIENNES AU COURS DU SIDA  | 107 |
| LISTE RECAPITULATIVE PAR ORGANE DES INFECTIONS RETROUVÉES CHEZ DES PATIENTS VIH POSITIFS | 107 |
| SUIVI D'UNE PERSONNE VIH POSITIVE  | 109 |

|   |     |
|---|-----|
| VIIH ET GROSSESSE - VIIH ET ENFANT            | 110 |
| KITS DISPONIBLES POUR LE DIAGNOSTIC DU VIIH   | 112 |
| DESINFECTANTS ACTIFS CONTRE LE VIIH           | 115 |
| DIAGNOSTIC D'UNE TUBERCULOSE PULMONAIRE       | 115 |
| DIAGNOSTIC D'UNE TUBERCULOSE EXTRA-PULMONAIRE | 117 |
| DIAGNOSTIC D'UNE MYCOBACTERIOSE ATYPIQUE      | 119 |
| DIAGNOSTIC D'UNE LÈPRE                        | 121 |

## **AUTRES DIAGNOSTICS BIOLOGIQUES** **123**

|  |     |
|--|-----|
| DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA CAUSE D'UNE DIARRHÉE OU D'UNE DÉSHYDRATATION | 123 |
| DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE INFLAMMATION                                 | 125 |
| DIAGNOSTIC D'UNE DÉNUTRITION OU D'UNE MALNUTRITION                       | 126 |
| DIAGNOSTIC D'UN DIABÈTE  | 128 |
| DIAGNOSTIC ET SURVEILLANCE D'UNE DYSCALCÉMIE                             | 129 |
| DIAGNOSTIC D'UNE INSUFFISANCE HÉPATIQUE                                  | 130 |
| DIAGNOSTIC D'UN ICTÈRE ET D'UNE CHOLESTASE                               | 131 |
| ORIENTATION DIAGNOSTIQUE EN CAS D'HÉPATITE SUSPECTÉE                     | 132 |
| DIAGNOSTIC D'UNE INSUFFISANCE RENALE                                     | 134 |
| DIAGNOSTIC D'UNE PROTÉINURIE OU D'UNE GLOMÉRULOPATHIE                    | 135 |
| DIAGNOSTIC D'UN ÉPANCHEMENT D'ASCITE                                     | 137 |
| DIAGNOSTIC D'UN EPANCHEMENT PLEURAL                                      | 137 |
| ORIENTATIONS DIAGNOSTIQUES LORS D'UNE FIEVRE ISOLEE                      | 138 |
| EXAMENS A EFFECTUER CHEZ UNE FEMME ENCEINTE                              | 138 |
| BILAN PRÉOPÉRATOIRE HÉMATOLOGIQUE  | 139 |

## **PRÉLÈVEMENTS** **140**

|  |     |
|--|-----|
| PRÉLÈVEMENT POUR RECHERCHE MYCOLOGIQUE           | 140 |
| PRÉLÈVEMENT DE CRACHATS                          | 141 |
| PONCTION D'ASCITE                                | 141 |
| RECUEIL D'EXPECTORATIONS INDUITES                | 142 |
| PRÉLÈVEMENT DE GORGE                             | 142 |
| MYÉLOGRAMME                                      | 143 |
| PRÉLÈVEMENT DE NEZ                               | 146 |
| PRÉLÈVEMENT D'OREILLE                            | 146 |
| PRÉLÈVEMENT DE PLAIE                             | 146 |
| PONCTION PLEURALE                                | 147 |
| PONCTION GANGLIONNAIRE                           | 147 |
| PONCTION LOMBAIRE                                | 149 |
| PRÉLÈVEMENTS A EFFECTUER POUR RECHERCHER UNE MST | 150 |
| PRÉLÈVEMENT DE SANG CAPILLAIRE                   | 151 |
| PRÉLÈVEMENT DE SANG VEINEUX                      | 151 |
| PRÉLÈVEMENT DE SELLES                            | 152 |
| PRÉLÈVEMENT URÉTRAL CHEZ L'HOMME                 | 152 |
| PRÉLÈVEMENT D'URINE                              | 153 |
| PRÉLÈVEMENT VAGINAL ET URÉTRAL FEMININ           | 153 |

## **TECHNIQUES GÉNÉRALES** **154**

|  |     |
|--|-----|
| ANTICOAGULANTS UTILISES                | 154 |
| CONSERVATION D'UNE PRÉPARATION         | 155 |
| ENVOI DE PRÉLÈVEMENTS                  | 156 |
| ÉTALEMENT D'UN LIQUIDE BIOLOGIQUE      | 157 |
| EXAMEN DIRECT ENTRE LAME ET LAMELLE    | 158 |
| FIXATION D'UNE LAME DEJA ÉTALÉE        | 158 |
| FROTTIS SANGUIN                        | 159 |
| UTILISATION DE LA CENTRIFUGEUSE A MAIN | 159 |
| UTILISATION DU MICROSCOPE              | 160 |

---

**TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES** **161**

|   |     |
|---|-----|
| COLORATION AU BLEU DE MÉTHYLÈNE                               | 161 |
| COLORATION AU LUGOL   | 161 |
| COLORATION DE GIEMSA  | 162 |
| COLORATION DE GOMORI-GROCOTT PAR LA METHODE DE MUSTO          | 163 |
| COLORATION DE WEBER   | 164 |
| CONCENTRATION PAR CENTRIFUGATION EN TUBES CAPILLAIRES DE WOOD | 165 |
| CONCENTRATION SELON BAYERMANN                                 | 165 |
| CONCENTRATION SELON HO THI SANG                               | 166 |
| CONCENTRATION SELON KATO ET MIURA                             | 166 |
| CONCENTRATION SELON RITCHIE                                   | 166 |
| COPROCULTURE  | 167 |
| MILIEUX DE CULTURE ADAPTES AUX ÉLÉMENTS MYCÉLIENS             | 168 |
| RECHERCHE D'ÉLÉMENTS MYCÉLIENS                                | 168 |
| GOUTTE EPAISSE  | 169 |
| TEST DE MAZZOTTI  | 170 |

---

**TECHNIQUES BIOCHIMIQUES** **171**

|   |     |
|---|-----|
| CONSIGNES GÉNÉRALES EN BIOCHIMIE                        | 171 |
| DOSAGE DE LA BILIRUBINE TOTALE ET CONJUGUÉE             | 172 |
| DOSAGE DU CALCIUM PLASMATIQUE ET URINAIRE               | 173 |
| DOSAGE DE LA CRÉATININE PLASMATIQUE ET URINAIRE         | 175 |
| DOSAGE DU GLUCOSE SÉRIQUE, CÉPHALORACHIDIEN ET URINAIRE | 176 |
| DOSAGE DES PROTÉINES PLASMATIQUES TOTALES               | 177 |
| DOSAGE DES PROTÉINES URINAIRES ET CÉPHALORACHIDIENNES   | 179 |
| DOSAGE DE L'URÉE PLASMATIQUE ET URINAIRE                | 181 |
| ESTIMATION DE LA CRP SÉRIQUE                            | 182 |
| ESTIMATION GLOBALE DE L'OSMOLARITÉ                      | 183 |
| DÉTERMINATION DE LA CLAIRANCE DE LA CRÉATININE          | 184 |
| MESURE DE LA DENSITÉ URINAIRE                           | 185 |
| MESURE DU pH  | 186 |
| RECHERCHE DE CORPS CÉTONIQUES DANS L'URINE              | 186 |
| RECHERCHE DE SELS ET DE PIGMENTS BILIAIRES DANS L'URINE | 187 |
| UTILISATION DE BANDETTES URINAIRES                      | 187 |
| UTILISATION DU RÉFRACTOMÈTRE                            | 189 |
| VITESSE DE SÉDIMENTATION                                | 190 |

---

**TECHNIQUES HÉMATOLOGIQUES** **191**

|                                       |     |
|---------------------------------------|-----|
| CALCUL DES CONSTANTES ÉRYTHROCYTAIRES | 191 |
| COLORATION MGG (MAY GRÜNEWALD GIEMSA) | 192 |
| DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE               | 192 |
| ESTIMATION GLOBALE DE LA COAGULATION  | 193 |
| FORMULE LEUCOCYTAIRE                  | 194 |
| HÉMATOCRITE                           | 195 |
| NUMÉRATION DES ÉRYTHROCYTES           | 196 |
| NUMÉRATION DES LEUCOCYTES             | 197 |
| NUMÉRATION DES PLAQUETTES             | 198 |
| NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES          | 199 |
| NUMÉRATION D'ÉLÉMENTS PAR CELLULE     | 200 |
| CHAMBRE HUMIDE                        | 201 |
| RECHERCHE D'HÉMOGLOBINES ANORMALES    | 202 |
| RECHERCHE D'UN DÉFICIT EN G6PD        | 203 |
| TEMPS DE LYSE DU CAILLOT              | 205 |
| MESURE DU TEMPS DE SAIGNEMENT         | 205 |

---

**TECHNIQUES BACTÉRIOLOGIQUES** **206**

|  |            |
|--|------------|
| <b>COLORATION DE GRAM</b>                                  | <b>206</b> |
| <b>COLORATION DE ZIEHL</b>                                 | <b>208</b> |
| <b>COLORATION DE VAGO</b>                                  | <b>209</b> |
| <b>TEST D'ADDIS HAMBURGER OU TEST HLM</b>                  | <b>210</b> |
| <b>CULOT URINAIRE</b>                                      | <b>210</b> |
| <b>ÉCRAN DE PROTECTION</b>                                 | <b>213</b> |
| <b>ÉTALEMENT DE CRACHAT</b>                                | <b>214</b> |
| <b>ÉTUVE A INCUBATION</b>                                  | <b>215</b> |
| <b>EXAMEN DIRECT BACTÉRIOLOGIQUE</b>                       | <b>215</b> |
| <b>RÉACTIFS D'IDENTIFICATION DES COLONIES BACTÉRIENNES</b> | <b>220</b> |
| <b>PROTOCOLES D'IDENTIFICATION</b>                         | <b>222</b> |
| <b>TEST A LA POTASSE</b>                                   | <b>223</b> |
| <b>UTILISATION DU BEC BUNSEN</b>                           | <b>224</b> |

---

**MATERIEL ET LOCAUX NECESSAIRES** **224**

|   |            |
|---|------------|
| <b>LOCAUX NECESSAIRES</b>                                     | <b>224</b> |
| <b>MATÉRIEL NECESSAIRE POUR LA MISE EN PLACE DE L'ÉTAPE 1</b> | <b>226</b> |
| <b>COUTS DE L'INSTALLATION</b>                                | <b>230</b> |

## HYGIENE ET SECURITE

### DEVENIR DES CONSOMMABLES JETABLES ET REUTILISABLES

**Les consommables jetables** (seringues, aiguilles, cotons souillés, pansements, lames d'étalement déjà lues, vaccinstyles, écouvillons utilisés, pots à crachats, pots à coproculture, pots à CBU ...) sont tout d'abord immergés dans une poubelle contenant de la Javel. Ils sont généralement immergés de la sorte jusqu'à ce que la poubelle soit pleine aux 3/4, ou moins, suivant l'activité du laboratoire.



Les déchets sont ensuite versés dans un trou creusé dans le sol, éloigné des puits, des habitations et des personnes. On peut même dresser une petite palissade (tiges de végétaux tressés) autour du trou pour empêcher son accès aux enfants et aux animaux. Les déchets sont ensuite brûlés, au besoin en ajoutant un peu d'essence et en faisant attention aux conditions d'allumage et aux conditions climatiques (vent!!). On peut par la même occasion brûler les MEG périmés du dépôt de médicaments. Il est généralement bon de procéder en présence de l'infirmier responsable de la formation sanitaire avec procès-verbal de l'acte mentionnant le nom et le nombre des MEG détruits.

*Petit incinérateur hospitalier (Sindou 1999)*

Dans un Hôpital, il est conseillé de se doter d'un petit incinérateur. Outre le laboratoire et la pharmacie, il servira aussi aux services cliniques et au bloc opératoire pour leurs déchets.

Pour toutes ces manipulations, mettre une blouse, des gants et des lunettes.

**Les consommables réutilisables** (pipettes, pipettes de Potain, cellules de numération, tubes 15 ml à eau ou à sérum physiologique contaminés ...)

- Ils sont tout d'abord rincés à l'eau pour éliminer d'éventuelles protéines qui pourraient coaguler en présence de Javel (surtout pour les pipettes de Potain).
- Les éventuels produits pathologiques contenus sont jetés dans la poubelle à consommables jetables.
- Le matériel est ensuite immergé totalement dans de la Javel diluée à cet usage pendant 20 minutes (ne pas excéder 30 minutes pour ne pas risquer de détériorer le matériel).
- Le matériel est finalement rincé à l'eau puis mis à sécher soigneusement. Il est ensuite rangé à l'abri de l'air dans une boîte (pipettes) ou stérilisé à l'autoclave par la suite (tubes).
- Dans certains cas, il est conseillé de rincer le matériel à l'eau distillée.

### STÉRILISATION A LA VAPEUR DU MATÉRIEL

Le but de la stérilisation d'un objet est la destruction ou l'inactivation irréversible de tous les micro-organismes qui se trouvent dans ou sur cet objet. Dans ou sur un objet stérilisé, aucun germe ne peut donc plus être décelé : il est stérile. Étant donné qu'un objet stérile peut être contaminé par contact avec le milieu extérieur, une première exigence est de conditionner l'objet avant stérilisation.

Ce n'est qu'au moment de son utilisation qu'il peut être déballé de manière aseptique. Le conditionnement et le mode de conservation du matériel stérile font intégralement partie de la stérilisation.

L'efficacité d'un procédé de stérilisation dépend également de la contamination initiale. Si le matériel à stériliser est fortement contaminé, la stérilité ne peut être garantie. La désinfection à la Javel puis le nettoyage du matériel avant emballage permettent de réduire la contamination initiale. La stérilisation ne se limite donc manifestement pas à un simple traitement dans un stérilisateur. D'autres éléments, tels que le nettoyage préalable et l'emballage, doivent donc également entrer en ligne de compte.

On peut stériliser par la chaleur humide : autoclave (ou cocotte-minute), ou par la chaleur sèche : four de type Poupinel. La stérilisation par la chaleur humide donne de meilleurs résultats, est plus rapide, se contente d'une source de chaleur au gaz (les fours sont électriques) et consomme moins d'énergie. C'est donc ce procédé que nous conseillons.

## STÉRILISATION PAR LA CHALEUR HUMIDE

### Introduction :

La stérilisation à la chaleur humide au moyen de vapeur saturée et sous pression constitue le procédé de stérilisation le plus fiable et le plus facile à contrôler. La stérilisation à la vapeur sous pression représente donc le premier choix pour le matériel qui résiste aux températures et pressions élevées, aux brusques changements de pression et à l'humidité.

### Principe

Le matériel à stériliser est exposé à l'action de la vapeur d'eau saturée et sous pression à des paramètres temps/température déterminés. Les objets à stériliser peuvent être placés sur des grilles, plaques perforées ou dans des conteneurs perméables à la vapeur, pourvus le cas échéant de matériaux absorbants.

### Mode opératoire :

Le matériel à stériliser doit tout d'abord être emballé. On utilise normalement des boîtes en inox à volets. A défaut, on utilise du papier. Le papier peut être utilisé sous forme de feuilles ou sous forme de sachets. Le meilleur papier est le papier journal vierge (voir avec les quotidiens locaux pour l'approvisionnement). Le conditionnement doit être perméable à l'air et à la vapeur. La fonction de protection du conditionnement et le séchage du matériel ne peuvent être compromis par la condensation. La stérilisation de tubes en verre de 15 ml (contenant 5 ml d'eau ou de sérum physiologique) ne nécessite pas d'emballage. Après avoir désinfecté puis rincé soigneusement les tubes, les remplir près du bec Bunsen de 5 ml d'eau déjà filtrée ou de 5 ml de sérum physiologique (préparé avec 1 litre d'eau filtrée et 9 grammes de sel). Flamber les cols puis les bouchons. Boucher les tubes **sans les visser à fond** (l'air doit pouvoir circuler pour éviter une surpression qui ferait exploser les tubes). Les placer verticalement bouchon en haut dans un panier en métal puis dans l'autoclave (à défaut d'un autoclave, on prend une Cocotte-minute, il existe cependant des petits autoclaves 8 litres avec manomètre de contrôle de la pression à 2000 FF).

### Stérilisation proprement dite :

- Placer les boîtes en inox, volets ouverts, ou les paniers contenant les tubes dans l'autoclave contenant de l'eau (environ 1 litre pour un autoclave de 8 litres, il doit en rester en fin de processus), boucher hermétiquement.
- L'eau ne doit pas toucher les boîtes ou les tubes. Au besoin, placer 3 ou 4 galets au fond de la cocotte pour surélever le panier.
- Placer l'autoclave sur la source de chaleur, la soupape d'évacuation étant ouverte. Dès l'apparition de l'ébullition, diminuer le chauffage pour permettre à l'air et à la vapeur de s'échapper doucement.
- Après une vingtaine de minutes, fermer la soupape d'évacuation de l'air. Augmenter le chauffage et surveiller le manomètre. En quelques minutes, il atteint 1 bar relatif ou 2 bars absolus.
- Diminuer le chauffage pour maintenir la pression entre 1 et 1.2 bars pendant 20 minutes puis couper le chauffage.
- Si on veut obtenir en même temps un séchage (valable pour les emballages papier), laisser fuir rapidement la vapeur par la soupape puis ouvrir l'autoclave dès que la pression est tombée (attention aux brûlures par la vapeur) et laisser sécher le panier à l'extérieur de l'autoclave.
- Si on stérilise des liquides, laisser la pression tomber sans ouvrir la soupape (pour éviter l'évaporation du liquide stérilisé). Lorsque la pression est égale à la pression atmosphérique, ouvrir l'autoclave, sortir tubes et bouteilles, serrer les bouchons immédiatement (manipuler avec des gants épais : attention aux brûlures)

Attention, la durée de 20 minutes est le temps suffisant, à 120°C, pour détruire les spores bactériennes. Encore faut-il que cette température soit obtenue au contact de la spore. Il faudra donc augmenter le temps d'autoclavage si le produit à stériliser est massif (gélose en flacon par exemple) ou isolant (blouses chirurgicales pliées par exemple). De plus, en altitude, il faudra tenir compte de la moindre pression atmosphérique pour obtenir la pression d'autoclavage.

Pour contrôler le processus on peut utiliser des étiquettes dont l'encre vire de couleur à certaines températures. On peut ainsi savoir à quelle température est soumis l'intérieur de la cocotte et en tirer le temps de contact. Par la suite, on peut placer des indicateurs de stérilisation, sorte de scotch à découper que l'on place à 2 ou 3 endroits différents dans la cocotte et qui serviront par leur virage à valider la stérilisation.

Si vous possédez un autoclave, le temps d'application est théoriquement de 20 minutes pour une température de 121°C, qui correspond à une surpression de 100 KPa. Le temps passe à 10 minutes pour une température de 134°C.

Pour les agents non conventionnels (prion de l'ESB), on conseille 20 minutes à 134 °C

#### **Procéder ensuite au rangement du matériel stérilisé:**

La conservation du matériel stérilisé est primordiale pour garantir une stérilité constante dans le temps. Lorsque l'on sort les boîtes de la cocotte, il est conseillé de mettre un petit bout de scotch coloré dessus pour écrire au marqueur indélébile la date de la stérilisation.

Les boîtes sont ensuite stockées dans une boîte en inox de grande taille, désinfectée à la Javel puis rincée. Cette boîte fermée sera placée dans l'armoire du laboratoire, à l'abri de l'air et de la lumière. Il est déconseillé d'utiliser des produits ou matériels stérilisés après plus de 3 mois de stockage.

Les tubes d'eau et de sérum physiologique sont conservés dans un petit carton à l'abri de la lumière.

L'apparition d'un trouble dans un tube entraînera le rejet de son utilisation. Attention, les tubes stérilisés le même jour dans les mêmes conditions risquent de ne pas être stériles eux aussi.

## **UTILISATION DE L'EAU DE JAVEL**

L'eau de Javel (hypochlorite) est un désinfectant bactéricide (actif sur les bactéries gram + et gram -), sporicide, fongicide et virucide (hépatite et SIDA). L'eau de Javel fait partie des oxydants chlorés.

**ATTENTION :** la Javel est un produit toxique qui provoque des brûlures sur la peau et les yeux. En cas de projection, il faut rincer longuement et abondamment à l'eau claire. Ne jamais mélanger la Javel à un autre produit, surtout pas à des acides car ils provoquent un dégagement gazeux de chlore, très toxique.

### **Préparation :**

L'eau de Javel se présente sous la forme d'un petit flacon de 250 ml de Javel concentrée titrant 48 °Cl (degrés chlorométriques). Ce concentré n'est jamais utilisé pur mais dilué au quart (250 ml de Javel concentrée + 750 ml d'eau). On obtient donc une eau de Javel titrant 12 °Cl.

### **Conservation :**

Le concentré ne se conserve que trois mois après fabrication, l'eau à 12 °Cl se conserve beaucoup mieux (6-12 mois). Il est donc conseillé de diluer un concentré en voie de péremption. L'un comme l'autre se conservent à l'abri de la lumière et si possible à une température < à 25°C.

### **Utilisation :**

Dans tous les cas mettre une blouse, des gants et des lunettes de protection.

- Sols, éviers et paillasses :  
Diluer un grand verre (250 ml) de Javel à 12 °Cl dans 8 litres d'eau. En cas de forte contamination, on peut augmenter la dose jusqu'à 1 litre de Javel à 12 °Cl dans 8 litres d'eau. Laver à la serpillière propre ou au chiffon (les éponges deviennent généralement gluantes) avec la dilution, laisser agir 20 minutes puis rincer à l'eau.
- Consommables réutilisables :  
Diluer 1 litre de Javel à 12 °Cl dans 5 litres d'eau.

- Instruments en inox désinfectés avant stérilisation  
Utilisé pour les aiguilles à ponction lombaire, les spéculums...  
Diluer un verre (250 ml) de Javel à 12 °Cl dans 10 litres d'eau, immerger le matériel pendant 10 à 20 minutes puis rincer à l'eau. Stériliser.  
Note : le liquide doit bien pénétrer dans les aiguilles. Au besoin utiliser une seringue pour aspirer et recracher le liquide. Rincer de la même manière, mais avec une seringue différente.

## LES POUBELLES AU LABORATOIRE

### Important :

- Chaque poubelle ne doit JAMAIS être remplie à fond : une poubelle se vide lorsqu'elle est pleine à moitié ou aux 3/4 au maximum.
- La manipulation des poubelles (fermeture, transport, incinération) se fait avec des gants, une blouse et des lunettes.
- Il faut se renseigner sur les procédures nationales en vigueur (s'il y en a) pour l'élimination des produits chimiques toxiques.

La gestion des déchets du laboratoire fait partie intégrante du travail du technicien de laboratoire. Il y a différents types de déchets, il y a donc différents types de poubelles, généralement rangées sous la paillasse. Voici les différents types de poubelles :

- Poubelle "standard" : papeterie, emballages non contaminés, plastique non contaminé.
- Poubelle à liquides contaminés, contenant de la Javel. On y déverse le sang, les urines et les autres fluides biologiques. Cette poubelle est généralement un bidon qui peut se fermer à l'aide d'un bouchon.
- Poubelle à accessoires à usage unique contaminés non pointus, contenant de la Javel. On y déverse les lames, les lamelles, les serviettes contaminées, les seringues sans aiguilles... Voir ensuite le devenir des consommables. Cette poubelle est contenue dans un sac poubelle plastique solide de grande taille (100 litres). Il sera incinéré avec ses déchets.
- Poubelle à accessoires à usage unique contaminés pointus, contenant de la Javel. Les vaccinostyles, les aiguilles et tous les objets qui peuvent trouser les sacs poubelle y sont placés. Cette poubelle est généralement un petit container en plastique, qui sera incinéré avec son contenu.
- Poubelles à liquides contenant chacune un produit chimique dangereux : de l'éther ou du formol ou autre (précisé dans les fiches techniques). Ces poubelles doivent être refermées hermétiquement après y avoir déversé le produit. On conseille donc un jerrican en plastique épais.

On trouvera aussi :

- Réceptacle à accessoires réutilisables contaminés en attente de décontamination / stérilisation contenant de la Javel. Voir ensuite le devenir des consommables

Les petites poubelles "de paillasse" (petit bidon dans lequel on a mis un sac en plastique) sont très pratiques. Il faut cependant éviter l'utilisation de ce type de poubelle. On les renverse facilement (le coup de coude !), de plus elles ont tendance à très vite transformer la paillasse entière en poubelle. Le seul récipient que l'on peut laisser sur la paillasse pendant les manipulations est un petit récipient (300 ml environ) avec un fond de Javel : on s'en servira pour les petits consommables jetables : lamelles, cônes de pipette, pipettes Pasteur...

## PROTECTION VACCINALE DU TECHNICIEN OU DU BIOLOGISTE

Rappel : calendrier des vaccinations françaises standards

La protection vaccinale du technicien est un pré-requis indispensable à toute manipulation. Il est impensable de laisser une personne manipuler des produits biologiques potentiellement contaminés sans être vaccinée. Il est à noter que les personnes s'occupant du ménage, de la stérilisation et de l'élimination des déchets sont

également concernées par ces vaccinations.

La responsabilité du chef de la formation sanitaire, du médecin-chef de district ou du directeur hospitalier peut être engagée en cas de contamination d'une personne non vaccinée.

#### **Vaccins obligatoires en toute saison et en toute région :**

- Hépatite B
- Tuberculose
- Diphtérie
- Tétanos
- Poliomyélite
- Typhoïde

#### **Vaccins obligatoires suivant les pays, les épidémies ou les saisons :**

- Fièvre Jaune (zone d'endémie)
- Méningocoque A et C
- Encéphalite japonaise (zone d'endémie)
- Choléra

Ne pas oublier que pour de nombreuses maladies il n'existe hélas pas de vaccin (hépatite C et SIDA pour ne citer qu'elles). Il est donc conseillé de suivre scrupuleusement les recommandations lors des manipulations, les recommandations de nettoyage du laboratoire et du lavage des mains.

### **PROTECTION PENDANT LES MANIPULATIONS**

La sécurité du technicien dépend de sa protection pendant les manipulations. Les mesures suivantes seront appliquées au maximum, suivant les possibilités et les moyens financiers.

#### **Règles générales :**

- Toujours porter une blouse dans le laboratoire. Elle sera changée chaque semaine et trempée dans la Javel avant d'être lavée. Elle sera changée si on renverse dessus par mégarde un produit biologique contaminé.
- Se laver les mains régulièrement, ôter sa montre et ses bijoux pour manipuler.
- Laver régulièrement les paillasse à la Javel (au moins 5-6 fois par jour).
- Laver le lieu de prélèvement entre chaque patient.
- Respecter au maximum les zones propres et sales du laboratoire : pas d'objets souillés (gants, masques, tubes, lames d'étalement) dans la zone propre y compris l'armoire. Pas d'objets propres (cahiers, stylos, calculatrice, objets personnels) dans la zone sale y compris la table de prélèvement et celle du microscope. Il est conseillé de prendre des notes sur feuilles volantes que l'on jette par la suite
- Porter des gants en latex lors de manipulations biologiques. Ne pas oublier que les gants ont tendance à devenir poreux au bout d'une demi-heure. Ne pas toucher d'objets propres avec des gants sales.
- Ne pas laisser les poubelles déborder, les incinérer lorsqu'elles sont pleines aux 2/3 ou 3/4 au plus.
- Toujours porter des lunettes de protection, lors de manipulation de matériel biologique (éclaboussures !) mais aussi lors de reconstitution de réactifs (acides !) ou lors de stérilisations (vapeur d'eau !) ou de désinfections (Javel !)
- Porter des gants de type "manipulation d'acides" en matière plastique épaisse et recouvrant le bras jusqu'au coude pour les stérilisations, les désinfections et les reconstitutions de réactifs.
- Toujours porter un masque lors de la recherche de BK ou lors de manipulation de ponctions lombaires.
- Laisser la paillasse totalement vide sans aucun matériel : les stocker sur l'étagère au-dessus de la paillasse.
- Ne pas laisser traîner de matériel contaminé : le jeter s'il est à usage unique ou le désinfecter s'il est réutilisable.
- Toujours considérer une lame d'étalement, même fixée et colorée, comme un produit potentiellement pathogène, surtout les lames de BK.

- Attention lors de la manipulation de l'éther, très inflammable.
- Toujours éteindre le bec Bunsen avant toutes manipulations.
- Ne JAMAIS fumer dans le laboratoire.
- Ne JAMAIS manger dans le laboratoire

## LAVAGE DES MAINS

Le lavage des mains est une opération à effectuer régulièrement :

- Avant et après un prélèvement.
- Après une série de manipulations biologiques.
- Avant et après les repas.
- Avant et après être allé aux toilettes.
- En fin de journée après avoir nettoyé le laboratoire.

Pour se laver les mains, il est conseillé d'utiliser un savon liquide de type Hibiscrub ou Bétadine solution moussante. Leur prix est d'une quinzaine de FF (prix pharmacie) pour 125 ml. On peut trouver des solutions d'iode à 2.5 % (à utiliser à 1 % pour les plaies et à 0.4 % pour les mains) et des solutions de chlorhexidine à 5 % (à diluer, voir plus bas) en générique :

**Attention** : ne jamais mélanger 2 produits antiseptiques (par exemple Javel et chlorhexidine ou mercurochrome et iode).

### Mode opératoire :

- Se mouiller les mains jusqu'au-dessus des poignets
- Déposer un peu de savon.
- Frotter soigneusement pendant 2 à 3 minutes l'ensemble des 2 mains en insistant sur les paumes, les espaces interdigitaux et le dessus des ongles. Ne pas utiliser de brosse à ongles.
- Rincer les mains avec de l'eau propre en la faisant couler du bout des doigts vers les poignets afin de ne pas retenir de saletés au bout des mains. L'opération de rinçage est importante car c'est elle qui entraîne les impuretés. Au besoin, rincer une deuxième fois.
- Se sécher les mains en utilisant de préférence du papier jetable. A défaut, on utilisera un bout de tissu ou de serviette javellisé lavé et changé chaque jour.

**Note** : pour la chlorhexidine, la dilution varie en fonction de l'utilisation :

- Préparation du champ opératoire : 1.5 % dans de l'alcool à 70°
- Antisepsie de la peau avant petite chirurgie : 0.5% dans de l'alcool à 70°
- Nettoyage et antisepsie des plaies : 0.05% dans de l'eau distillée

Pour le lavage des mains, on peut utiliser un récipient contenant un fond de liquide vaisselle auquel on ajoutera une solution aqueuse de chlorhexidine à 2 %. Mélanger par retournement sans agiter.

## NETTOYAGE DU LABORATOIRE

Le nettoyage du laboratoire est un acte régulier, simplifié par l'habitude de ranger ce que l'on utilise juste après s'en être servi, et qui utilise de manière systématique l'eau de Javel :

- Après toute manipulation contaminante : (recherche de BK, diagnostic d'une méningite ...) Nettoyage de la paillasse à la Javel, rinçage à l'eau du matériel puis décontamination du matériel réutilisable.
- Après toute manipulation pendant laquelle on a renversé un produit potentiellement contaminé.
- Avant le repas de midi : nettoyage de la paillasse.
- Le soir : nettoyage de la paillasse, nettoyage du sol à la Javel, nettoyage de la table des prélèvements à la Javel, nettoyage du microscope (se reporter au chapitre sur l'entretien du microscope). Éventuellement, évacuation puis incinération des déchets.

Ce nettoyage qui peut paraître fastidieux au technicien est en fait le garant de sa sécurité. S'il n'est pas effectué, il en sera le premier affecté.

## DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE PARASITOSE

### EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES SELLES

Effectuer tout d'abord un prélèvement de selles

Noter ensuite l'aspect des selles :

| SELLES                    | ORIENTATION  |
|---------------------------|--|
| Moulées                   | Rares formes végétatives<br>œufs et kystes possibles |
| Diarrhée                  | Formes végétatives et œufs possibles                 |
| Diarrhée + sang + glaires | Recherche d'amibes hématophages                      |
| Aqueuses                  | Syndrome choléforme                                  |

Procéder ensuite à un examen direct entre lame et lamelle :

- Objectif 10 : on recherche des œufs (*ascaris*, trichocéphale, ténias, oxyure, ankylostome, bilharziose, douves) et des larves (anguillule et ankylostome).
- Objectif 40 : on recherche des kystes (amibes, *Giardia*, *Chilomastix*, *Blastocystis*, *Cryptosporidium*) et des formes végétatives (amibes, *Giardia*, *Trichomonas*)

Dans tous les cas, procéder ensuite à une concentration des selles, de préférence successivement par les deux méthodes suivantes :

- Par la méthode de Ritchie (non valable pour *ascaris*, trichocéphale et formes végétatives)
- Par la méthode de Kato

**ATTENTION** : Éléments non parasitaires des selles :

| ÉLÉMENT                          | DESCRIPTION  | CONFUSION AVEC                   |
|----------------------------------|--|----------------------------------|
| Poil végétal                     | Immobile, très réfringent, extrémité sectionnée nette          | Larve d'anguillule               |
| Cellules de féculent             | Grande cellule ovale à contenu mal défini                      | Œuf d'ankylostome                |
| Pollens ou spores de champignons | Ovale de petite taille, contenu optiquement vide.              | Kystes                           |
| Pollens végétaux                 | Grains jaune ou éléments arrondis 20-50 µ spiculés             | Kystes ou œufs d' <i>ascaris</i> |
| Fibre musculaire                 | variable : élément arrondi avec ou sans stries (digéré ou non) | Œufs                             |
| Macrophage                       | cellule arrondie, 15 µ vacuolisé, noyau peu visible            | forme végétative d'amibe         |
| Cellule épithéliale              | Polygonales, gros noyau clair                                  | forme végétative d'amibe         |
| Lobules de graisse               | 3 µm, arrondi, très réfringent, vide.                          | kystes                           |

|                            |  |              |
|----------------------------|--|--------------|
| <b>Trachéides annelées</b> | En anneau à 4-5 bords réfringent, vide.    | Kystes       |
| <b>Savon</b>               | Arrondi / polycyclique, incolore, craquelé | Œuf de ténia |
| <b>Amidon cru</b>          | Grains réfringents asymétriques striés     | Kystes       |

### EXAMEN PARASITOLOGIQUE DU SANG

Cet examen permet la recherche des plasmodium, des trypanosomes et éventuellement des leishmanies (surtout recherchées dans la moelle).

Il est conseillé de se reporter aux chapitres concernant ces parasites en particulier.

### EXAMEN PARASITOLOGIQUE DU LCR

Un examen purement parasitologique du LCR est rare.

Il est généralement effectué chez une personne immunodéprimée présentant des troubles neurologiques accompagnant une fièvre résistant aux antibiotiques et aux antimalariques.

On peut aussi rechercher des trypanosomes pendant la phase méningo-encéphalitique de la maladie, phase pendant laquelle ils sont rares dans le sang périphérique.

Pratiquer une ponction lombaire. On recherchera dans le culot de centrifugation du LCR :

- Des cryptocoques
- Des levures de type *Candida*
- Des trypanosomes

### EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES URINES

Le diagnostic parasitologique urinaire le plus fréquent est celui de la Bilharziose à *S. haematobium*. En cas de chylurie (rare), on peut trouver des microfilaires dues à une filariose lymphatique (*Wuchereria bancrofti* et *Brugia spp.*).

Dans les deux cas, on procède à un prélèvement d'urine (pour la recherche d'œufs de bilharziose, le malade doit sauter sur place pendant 5 minutes avant la miction).

On réalise ensuite un culot de centrifugation que l'on observe entre lame et lamelle.

Pour plus de précision, on peut se reporter aux chapitres concernant ces parasites.

### EXAMEN PARASITOLOGIQUE DE LA PEAU, DES MUQUEUSES ET DU DERMIS

On recherche :

- Des champignons : dermatophytes, *Candida*, Pytiriasis versicolor et autres champignons
- Des helminthes : microfilaires d'onchocercose et de ver de Guinée, nodules cysticerquiens de ténia solium

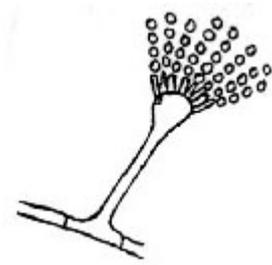
- Des protozoaires : *Trichomonas vaginalis*
- Des insectes : poux, tiques, gale

Se reporter aux chapitres concernés.

## CHAMPIGNONS et LEVURES

- Aspergillose
- Candidose
- Cryptococcose
- Dermatophytoses
- Histoplasmose
- Mycétomes
- Mycoses rares
- Pneumocystose
- Pyriasis versicolor

### ASPERGILLOSES



Mycoses dues à des champignons filamenteux opportunistes. *A. Fumigatus* est le plus souvent en cause. Ces champignons sont abondants dans les lieux humides et les végétaux en décomposition. On les appelle "*Aspergillus*" car, mis en culture, les aspergillus produisent des "têtes aspergillaires", en pinceau, sphériques ou hémisphériques, composées d'un conidiophore (le "tronc"), d'une tête conidienne (renflement terminal), de phialides (support des conidies, sur une ou deux rangées) puis des conidies.

Les aspergilloses surviennent chez des personnes faibles, malnutries ou immunodéprimées.

#### Clinique :

Aspergillome broncho-pulmonaire :

- Favorisée par un antécédent de tuberculose.
- Crachats hémoptoïques, toux, altération de l'état général.

Aspergillose invasive :

- Rencontré chez l'immunodéprimé. Urgence médicale.
- Pneumopathie fébrile résistante aux antibiotiques, hémoptysies, douleurs thoraciques

Bronchite aspergillaire :

- Rare, notion de contact avec les céréales.
- Toux intense, bronchite infectieuse, hémoptysies, émission de moules bronchiques caractéristiques.

Otomyose aspergillaire : on retrouve des grains dans du pus auriculaire. On peut aussi rencontrer des sinusites aspergillaires.

Allergies respiratoires :

- Asthme aspergillaire
- Aspergillose broncho-pulmonaire allergique : asthme fébrile, dyspnée continue, hyperéosinophilie.
- Alvéolite

**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement d'expectorations induites ou de crachat. Le LBA est habituellement préconisé, mais il est illusoire dans beaucoup de pays.

**Diagnostic biologique :** le diagnostic des aspergilloses fait aussi beaucoup appel à la radiologie

Macroscopique :

- Présence de " moules " bronchiques dans une expectoration : en faveur d'une bronchite aspergillaire
- Présence de grains noirs dans un prélèvement d'oreille : en faveur d'une otomycose à *A. niger*



Microscopique :

*Crachat contenant des Aspergillus, coloration de Gram*

- Examen du prélèvement entre lame/lamelle dans une goutte de NaCl 0.9% ou dans du bleu de lactophénol.

- Présence de filaments mycéliens à bords parallèles, cloisonnés et ramifiés à angle aigu, 3-5 µm de diamètre.

- La présence de têtes aspergillaires est exceptionnelle, de plus, même en cas d'aspergillose avérée, on n'est pas sûr de retrouver les filaments dans les expectorations. Il faudra donc renouveler les prélèvements. En cas de certitude diagnostique, il faut traiter le patient en urgence si on dispose des médicaments, puis l'envoyer dans un hôpital spécialisé en pathologie infectieuse.

**Diagnostic différentiel :**

- Filaments de mucorales : bords non parallèles, peu cloisonnés, ramifiés à angle droit, 8-10 µm de diamètre.
- Pseudomycélium de *Candida*, peu ramifié.
- Filaments de *Nocardia* (acido-alcool-résistant) de 1 µm de diamètre

**Culture :**

La culture est réservée à des laboratoires de grande taille, disposant du matériel adéquat. Il faut faire très attention de ne pas contaminer ses cultures avec des *Aspergillus* ambiants. Ensuite, il faudra faire attention de ne pas contaminer ses autres cultures avec une culture aspergillaire.

Tous les éléments de culture sont donc donnés à titre indicatif

- Les aspergillus peuvent être cultivés, mettant en évidence les têtes aspergillaires caractéristiques.
- Les aspergillus sont cultivés sur un milieu au malt, sans actidione.

| Type             | Poussée en j | Recto des colonies                        | Verso des colonies | Conidio-phore                    | Tête conidienne      | Vésicules      | Rangées de phialides | Conidies   | Formes sexuées                       |
|------------------|--------------|---|--------------------|----------------------------------|----------------------|----------------|----------------------|--|--------------------------------------|
| <i>fumigatus</i> | 2            | blanc à vert et gris à noir               | incolore à rouge   | 300 m lisse incolore             | 100 m en colonne     | massue         | 1                    | 2.5-3 m rondes vertes échinulées                 | rares                                |
| <i>nidulans</i>  | 7-14         | vert-marron +/- poudre jaune              | rougeâtre          | 75-100m lisse sinueux marron     | 60-70 m en colonne   | hémi sphérique | 2                    | 3-5 m rondes échinulées vertes                   | fréquentes : cleistothèce, ascospore |
| <i>flavus</i>    | 3-4          | vert-jaune poudreux                       | incolore à rosé    | 100 m rugueux incolore           | 300-400 m radiée     | hémi sphérique | 1-2                  | 3.4-4.5 m échinulées vertes rondes ou piriformes | +/- sclérotés                        |
| <i>terreus</i>   | 2-3          | cannelle + gouttelettes ambrées           | jaune foncé à brun | 100-250 m lisse incolore sinueux | 150-300 m en colonne | hémi sphérique | 2                    | 2 m rondes lisses                                | inconnues                            |
| <i>niger</i>     | 1-2          | blanc à jaune à noir poudreux ("nescafé") | noir               | 1000 m lisse incolore ® brun     | 30-80 m radiée       | hémi sphérique | 2                    | 2.5-4.5 m noires lisses ou échinulées,           | +/- sclérotés                        |

|                   |      |                                   |          |                                  |                     |       |   |  |   |
|-------------------|------|-----------------------------------|----------|----------------------------------|---------------------|-------|---|--|---|
|                   |      |                                   |          |                                  |                     |       |   | globuleuses                              |   |
| <b>versicolor</b> | 7-14 | blanc /<br>jaune à vert           | incolore | 500-700 m<br>lisse<br>incolore   | 100-125<br>m radiée | ovale | 2 | 2-3 m<br>rondes<br>lisses jaune<br>vert  | +/- sclérotés<br>et cellules<br>en noisette |
| <b>glaucus</b>    | 2-3  | blanc à<br>vert-jaune<br>poudreux | noir     | 200 m large<br>trapu<br>incolore | 30-60 m<br>radiée   | ovale | 1 | 3-13 m<br>ovales<br>échinulées<br>vertes | cleistothèque<br>, asques,<br>ascospores    |

En cas d'examen direct négatif, l'isolement du même aspergillus dans 2 prélèvements successifs est nécessaire pour affirmer le diagnostic.

**Traitement habituel :**

Amphotéricine B injectable : perfusion IV lente (8-10 heures) dans du sérum glucosé isotonique. Posologie progressive de 0.1 mg/Kg pour arriver à 1 mg/Kg au maximum. Le traitement dure plusieurs semaines. A cause des réactions allergiques provoquées par l'amphotéricine B, il est conseillé de débiter le traitement avec des corticoïdes et des antihistaminiques.

On peut aussi utiliser l'itraconazole, mais il n'est pas disponible en générique.

**Contrôles d'efficacité :** dans un laboratoire spécialisé.

L'efficacité du traitement doit être contrôlée par culture uniquement. En effet, l'examen direct n'est pas assez sensible et la sérologie est très peu applicable aux immunodéprimés.

**DIAGNOSTIC D'UNE CANDIDOSE**

Les candidoses sont les affections fongiques les plus fréquentes. *Candida albicans* est responsable de la plupart des cas.

**Facteurs favorisants :**

- Locaux : humidité, macération
- Généraux : âges extrêmes, antibiotiques, contraceptifs, psychotropes
- Liés à une pathologie : diabète, SIDA, neutropénies...

**Clinique :**

*Candidose buccale chez le nourrisson*



- Candidose cutané-muqueuse : érythème et enduit blanchâtre, buccal, vaginal, cutané ou autre
- Candidose profonde : Fréquemment associé au SIDA, symptomatologie peu évocatrice, fièvre modérée résistante aux antibiotiques et aux antiparasitaires, utilisation de méthodes de culture.

**Prélèvement :** variable suivant la localisation :

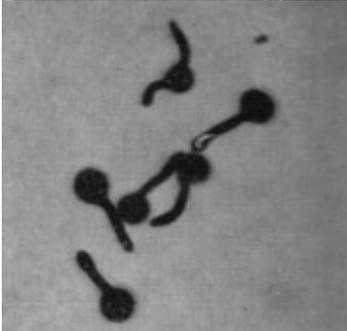
- Bouche, anus, vagin, lésions cutanées humides : prélèvement sur écouvillon stérile humidifié. On prélève les enduits blanchâtres s'il y en a. A défaut, on grattera énergiquement une zone érythémateuse.
- Lésions cutanées sèches : prélèvement à la curette ou au vaccinostyle
- lésions unguéales : grattage de l'ongle ou pression sur le bourrelet péri-unguéal pour recueillir le pus.
- Expectorations : après un lavage de bouche au bicarbonate, on recueille les expectorations (ou mieux les expectorations induites)
- Selles, urines, LCR : prélèvement standard

**Examen direct :**

Procéder à une recherche d'éléments mycéliens

En cas d'examen direct positif, il faut différencier le genre *albicans* des autres genres par un test de blastèse ou filamentation en sérum : on place une goutte du liquide, une partie de l'enduit ou quelques colonies issues de la culture dans 3 ml de sérum (humain ou animal) que l'on place à 37° : 95 % des levures du

genre *albicans* développent des tubes germinatifs caractéristiques en 2-3 heures.



*Tubes germinatifs de Candida albicans*

**Pathologies habituellement associées :**

- Sans immunodépression : variable suivant les localisations
- Avec une immunodépression associée : pneumocystose, cryptococcose, toxoplasmose, cryptosporidiose et autres coccidioses, aspergillose, tuberculose ... se reporter aux pages consacrées au VIH

**Traitement habituel :** médicaments disponibles en génériques

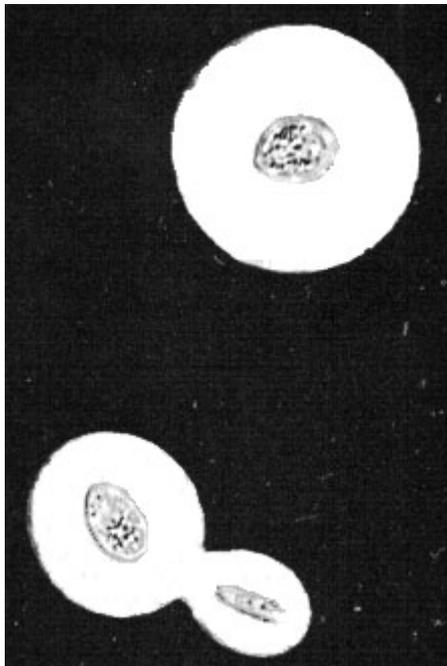
- Mycose cutanéomuqueuse : antimycosiques par voie locale (nystatine, fluconazole)
- Mycose profonde : amphotéricine B IV à dose progressive :  
On lui associe des antihistaminiques et éventuellement des corticoïdes pour diminuer ses effets secondaires

## DIAGNOSTIC D'UNE CRYPTOCCOSE

Pathologie cosmopolite due à une levure : *Cryptococcus neoformans*, contaminant l'homme par voie aérienne, plus rarement cutanée.

### Épidémiologie :

L'immunodépression à médiation cellulaire est la principale étiologie des cryptococcoses : VIH, lymphomes, maladies de système, traitement au long cours aux corticoïdes.



*Levures bourgeonnantes de cryptococques avec leurs capsules de taille variable*

### Clinique :

- Forme pulmonaire : le plus souvent paucisymptomatique
- Forme neuroméningée : la plus fréquente : tableau de méningite ou de méningo-encéphalite
- Autres formes : beaucoup plus rares : cutanées, muqueuses, osseuses, digestives...

### Prélèvement :

Réaliser une ponction lombaire. Il est possible de mettre en évidence le parasite dans d'autres milieux biologiques : expectorations, urines, pus, ponction ganglionnaire, biopsies... mais ces explorations sont généralement réservées à des centres hospitaliers de plus grande échelle.

### Examen direct :

Pratiquer un contraste (ce n'est pas une coloration) à l'encre de Chine, permettant de mettre en évidence la capsule du cryptococque

- Diluer l'encre de Chine au 1/2 dans du sérum physiologique : 200 µl encre de Chine et 200 µl de sérum physiologique, centrifuger pour éliminer les petites particules d'encre.
- Sur une lame propre et dégraissée, déposer 50 µl de la ponction lombaire homogénéisée (ou encore le culot de centrifugation pour augmenter le rendement de l'observation) et 50 µl de la dilution d'encre de Chine
- Recouvrir d'une lamelle et observer à l'objectif 20 puis 40

Il est possible de procéder de la même manière avec un culot urinaire

On observe des levures bourgeonnantes de 4 à 6 µm, capsulées (10-20 µm), la capsule apparaissant en négatif par rapport au fond noir du à l'encre de Chine.

Toute présence de cryptocoque est pathogène, quelle que soit le nombre d'éléments.

#### **Culture :**

La culture des cryptocoques est possible mais dépasse le cadre fixé par ce guide. De même, la recherche des antigènes capsulaire n'est pas abordée ici.

#### **Examen complémentaires :**

- Biochimie du LCR : elle peut être normale (glucose, protéines)
- Cytologie du LCR : syndrome méningé à liquide clair, comportant de 10 à 100 éléments par mm<sup>3</sup>, en majorité des lymphocytes.

#### **Pathologies habituellement associées :**

Celles de l'immunodépression : pneumocystose, candidose, toxoplasmose, cryptosporidiose et autres coccidioses, aspergillose, tuberculose ...

**Traitement habituel, contrôles d'efficacité :** médicaments disponibles en génériques.

Amphotéricine B IV : 0.7 à 1 mg/Kg/j en atteignant la posologie en trois jours. On lui associe des antihistaminiques et éventuellement des corticoïdes

Si la NFS est normale, on peut procéder à une association synergique avec de la 5-fluorocytosine à la dose de 75 à 100 mg/Kg/J per os ou IV. Ces traitements sont poursuivis pendant 2 mois, puis on effectue régulièrement des cures (+/- à vie).

Les contrôles d'efficacité sont surtout cliniques, la ponction lombaire étant un geste invasif et dangereux.

## **DERMATOPHYTOSES**

Mycoses superficielles dues à des champignons filamenteux à mycélium cloisonné à tropisme pour la peau, les poils, les cheveux et les ongles.

Leur diagnostic est surtout clinique, le laboratoire peut être utile en cas :

- de lésions atypiques surtout par surinfections bactériennes
- de résistance à un traitement initial
- d'enquêtes épidémiologiques

Les espèces en causes sont principalement : *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton*

#### **Clinique :**

Teignes : atteintes du cuir chevelu, de quatre types :

- tondante sèche à grandes plaques : microsporiques, Wood +
- tondante sèche à petites plaques : trichophytiques, Wood -
- inflammatoires : surinfection : kérions (cheveux) et sycosis (barbe et poils)
- faviques : tondante définitive, Wood +

Atteintes de la peau (épidermophytoses) et des plis (intertrigos)

Onyxis : atteinte des ongles sans atteinte du bourrelet péri-unguéal.

#### **Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement à visée mycologique

#### **Examen direct :**

Pratiquer une recherche d'éléments mycéliens, éclaircir le milieu à la potasse aqueuse à 20 % ou au bleu de lactophénol.

Ongles et squames : présence constante de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés.

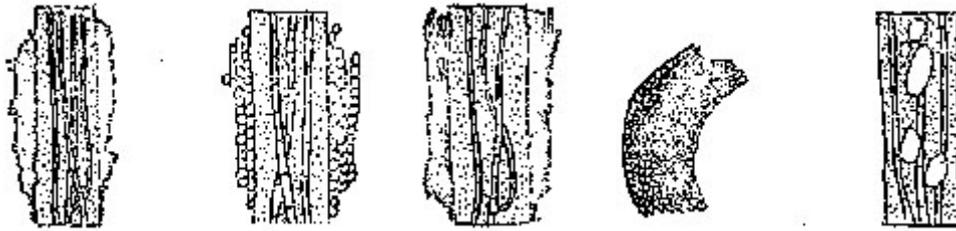
Cheveux et poils : on distingue 5 types de parasitisme :

- MICROSPORIQUE : *M. canis*, *audouini* et *langeroni*  
Les cheveux sont cassés à quelque millimètres du cuir chevelu

Peu de filaments intrapilaires

Gaine de petites spores péripilaires de 2 µm

- TRICHOPHYTIQUE ou endothrix pur : *T. violaceum* et *soudanense*  
Les cheveux sont cassés au niveau du cuir chevelu, englués dans les squames beaucoup de filaments intrapilaires, se transformant en chaînes de spores de 4 µm
- FAVIQUE : *T. schoenleinii*  
cheveux non cassés, filaments intrapilaires (dégagement de gaz sous l'effet de la potasse) godet favique caractéristique entourant les cheveux à leur émergence
- MICROÏDE : *T. mentagrophytes*  
cheveux expulsés par la réaction inflammatoire, peu de filaments intrapilaires chaînettes de spores de 2 µm à l'extérieur du cheveu
- MEGASPORE : *T. ochraceum*  
cheveux cassés puis expulsés par l'inflammation peu de filaments intrapilaires, spores de 4-5 µm à l'extérieur du cheveu.



Les différents parasitismes, de gauche à droite : microsporique, mégaspore, microïde, trichophytique et favique (bulles de gaz sous l'action de la potasse)

#### Culture :

On peut cultiver les dermatophytes sur un milieu au malt additionné d'actidione pour inhiber les aspergillus. Il existe de très nombreuses espèces, différenciées par leur type de parasitisme, le présence de microconidies et/ou de macroconidies, leur nombre, leur forme, le diamètre des filaments ...

La détermination de l'espèce peut être intéressante pour une étude épidémiologique, pour différencier une rechute d'une nouvelle infection, ou pour un diagnostic de certitude. Cependant, l'examen direct est suffisant pour affirmer le diagnostic de dermatophytose. Le traitement est ensuite identique quel que soit le champignon.

On retrouve :

- |                         |                            |
|-------------------------|----------------------------|
| • <i>E. floccosum</i>   | • <i>T. rosaceum</i>       |
| • <i>M. audouini</i>    | • <i>T. soudanense</i>     |
| • <i>M. langeroni</i>   | • <i>T. rubrum</i>         |
| • <i>M. ferrugineum</i> | • <i>T. mentagrophytes</i> |
| • <i>M. canis</i>       | • <i>T. interdigitale</i>  |
| • <i>M. gypseum</i>     | • <i>T. ochraceum</i>      |
| • <i>T. violaceum</i>   | • <i>T. schoenleinii</i>   |

#### Traitement :

Il repose sur la prise de griséofulvine par voie orale pendant 1 mois : 15 mg/Kg/j chez l'enfant, 0.5 -1g/j chez l'adulte, en deux prises, pendant les repas ou avec des aliments gras (lait entre autre). Attention, la griséofulvine est inducteur enzymatique (contraception, barbituriques ...) et est contre-indiquée chez la femme enceinte.

En cas de traitement > 1 mois, on peut surveiller l'hémogramme et les fonctions hépatiques.

#### DIAGNOSTIC D'UNE HISTOPLASMOSE

Les histoplasmoses étaient des pathologies très rares mais sont en pleine recrudescence actuellement, la majorité des cas étant liés au SIDA, le plus souvent par réactivation d'une infection ancienne (jusqu'à 15 ans avant !).

Il existe deux variété d'*Histoplasma capsulatum* :

- une dite "américaine" (*capsulatum capsulatum*), pulmonaire et disséminée.
- une dite "africaine" (*capsulatum duboisii*), cutanée, ganglionnaire et osseuse.

En culture, leurs filaments sont identiques avec de grosses spores échinulées, par contre, la forme levure est différente par la taille, la forme africaine est plus grande que la forme américaine.

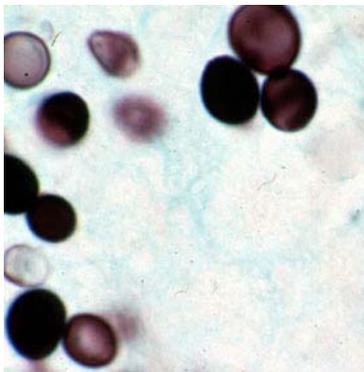
**Clinique :**

Histoplasmosse pulmonaire, essentiellement américaine (aussi en Afrique du Sud et au Moyen-Orient)

- Aspect clinique variable, souvent atypique
- Pneumopathie fébrile résistante aux antibiotiques avec des retentissements cutanéomuqueux possibles.
- On peut aussi rencontrer une forme disséminée septicémique avec altération de l'état général.

Histoplasmosse cutanéoganglionnaire, uniquement africaine : *photo*

- Adénopathies fermes, indolores, évoluant sur des mois, augmentant de volume puis deviennent inflammatoires avant de fistuliser à la peau, libérant un pus ganglionnaire.
- On peut observer des complications ostéo-articulaire, mais très rarement une forme disséminée.
- Maladie évoluant sur des années.



**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement d'expectorations induites ou de crachat (forme pulmonaire) ou pratiquer un prélèvement de ganglion ou recueillir le pus de fistulisation d'un ganglion.

*Histoplasma duboisii*, *pus ganglionnaire*, Gomori-Grocott

Lors d'une forme disséminée, on peut retrouver *H. capsulatum* dans le sang circulant.

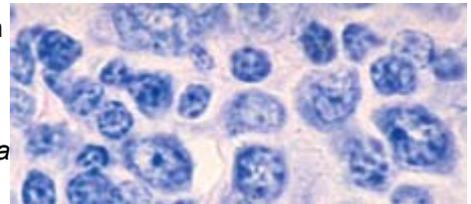
**Examen direct :**

Étaler les prélèvements sur lame. On colore ensuite généralement au

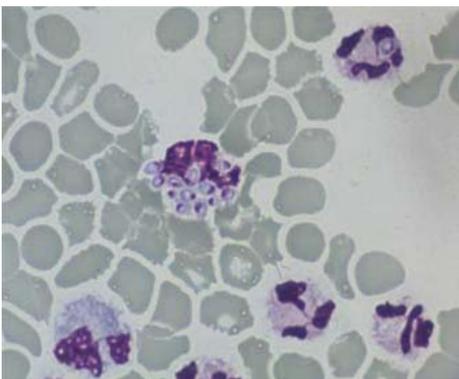
Giemsa, mais d'autres colorations sont possibles (Gomori-Grocott, Hématoxyline-éosine ...)

*Histoplasma capsulatum*, expectoration, Giemsa

Sur les frottis, on peut voir des levures de 20 µm de diamètre (*H. duboisii*), ou de 2-4 µm de diamètre (*H. capsulatum*).



**Traitement :**



Amphotéricine B injectable : perfusion IV lente (8-10 heures) dans du sérum glucosé isotonique. Posologie progressive de 0.1 mg/Kg pour arriver à 1 mg/Kg au maximum. Le traitement dure trois mois et les récurrences sont fréquentes. A cause des réactions allergiques provoquées par l'amphotéricine B, il est conseillé de débiter le traitement avec des corticoïdes et des antihistaminiques.

*Histoplasma capsulatum*, sang circulant, hématoxyline-éosine

**MYCETOMES (Pied de Madura)**

Tumeur sous-cutanée chronique due à la pénétration traumatique d'un champignon ou d'un actinomycète. Elle s'observe en zone subtropicale et se caractérise par un envahissement progressif de tous les tissus sous-jacents. L'homme se contamine en se piquant avec des épineux, la lésion est donc souvent au niveau du pied.



L'examen biologique est important car il permet de faire la différence entre une origine fongique (*Acremonium*, *Madurella*) et une origine bactérienne (actinomycètes : *Nocardia*, *Actinomyces*, *Actinomadura*, *Streptomyces*) de la pathologie, ce qui conditionne son traitement.

*Pied de Madura*

**Prélèvement :**

Récupérer du pus ou de l'exsudat de l'infection, à défaut, réaliser une biopsie de peau.

Confectionner des lames en étalant le pus ou par apposition de biopsie. Il doit y avoir des "grains" sur la lame. Après avoir noté la couleur (noire, jaune, blanche, rouge ou beige) et le diamètre des grains (entre 0.5 et 3 mm le plus souvent, quelque fois autour de 0.1 mm), on écrase les grains pour réaliser un frottis.

- En cas d'actinomycose, les grains sont souvent noirs ou blancs
- En cas d'infection mycosique, les grains sont souvent rouges ou jaunes

**Examen direct :** examiner entre lame et lamelle. On peut aussi colorer au Giemsa, au Gram ou à l'aide de colorants histologiques.

- En cas d'actinomycose, on observe des filaments ramifiés Gram positif de 0.5 à 2 µm de diamètre, mais aussi des éléments coccoïdes ou bacillaires
- En cas d'infection mycosique, on observe des hyphes fongiques de 2 à 5 µm de diamètre

La culture est possible mais elle est longue et difficile.

**Traitement :**

- Mycose :  
Exérèse chirurgicale. Les médicaments sont peu actifs et on doit souvent amputer (ce qui justifie de pouvoir faire un diagnostic rapide). Le kétoconazole semble cependant plus actif que les autres antimycosiques.
- Actinomycète :  
On peut utiliser la dapson (antilépreux) 100 mg par jour associée à des sulfamides type sulfadoxine 1.5 g/semaine. Le traitement doit durer au moins 4 mois. On peut aussi utiliser du cotrimoxazole, de l'amikacine ou de la minocycline.

**MYCOSES OU AFFECTIONS CUTANÉES RARES**



**Chromomycose ou chromoblastomycose :**

Mycose cutanée, à prédominance tropicale, responsable de dermatite verruqueuse chronique. Le champignon existe dans les squames, le tissu cutané et le pus.

La chromoblastomycose est présente dans les régions arides du sud de Madagascar ainsi que dans la forêt tropicale humide des côtes nord et est. On la retrouve aussi en Afrique centrale.

*chromoblastomycose du pied.*

**Clinique :**

La chromoblastomycose est une infection de la peau et des tissus sous-cutanés, provoquée par divers champignons pathogènes présents dans certains espèces végétales.

Au niveau du site de piqûre et de traumatisme infecté par le champignon se développent des excroissances verruqueuses et des ulcères qui s'étendent ensuite peu à peu à des zones saines du corps. La maladie continue à évoluer au fil du temps et peut aboutir à une mutilation des membres atteints et à des handicaps débilissants permanents.

**Prélèvement :**



Prélever les squames, les croûtes, le pus ou réaliser une biopsie de peau. Écraser squames et pus sur une lame ou réaliser des appositions de la biopsie.

*Cellules fumigoïdes brunes caractéristiques*

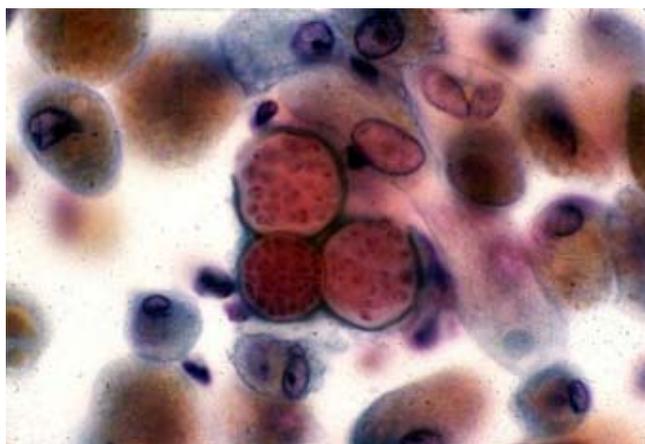
**Examen direct :**

Après éclaircissement par la potasse à 10 % et éventuellement coloration par un bleu, on voit des filaments mycéliens septés de diamètre 2-5 µm. On peut aussi mettre en évidence des cellules fumigoïdes brunes caractéristiques, muriformes, de 5 à 12 µm de diamètre.

Les champignons incriminés appartiennent majoritairement aux genres *Phialophora*, *Cladosporium*, *Rhinocidiella* et *Fonsecaea*.

**Traitement :**

- Excision chirurgicale
- Médicamenteux : terbinafine et itraconazole (non disponible en générique), environ 80% de guérison.



**Coccidioïdomycose :**

Mycose profonde, due à *Coccidioides immitis*, transmise par inhalation de poussières du sol, endémique dans les régions désertiques du continent américain. Il existe une forme primaire pulmonaire bénigne et des formes viscérales généralisées graves, spécialement chez l'immunodéprimé.

*Coccidioides immitis* est retrouvé essentiellement en Amérique.

*sphérules de Coccidioides immitis*

**Diagnostic biologique :**

Examen mycologique de crachats ou de biopsie : présence de sphérules à l'examen direct.

Les sphérules sont à paroi épaisse et ont un diamètre de 30 à 60 µm. A l'intérieur, on aperçoit des endospores de 2 à 5 µm de diamètre, caractéristique

de *Coccidioides immitis*. Les endospores sont libérées lors de la rupture de la membrane, mais ont tendance à rester agglomérés les uns aux autres.

On peut alors confondre ces endospores avec des levures de *Blastomyces dermatidis*.

**Traitement :**

Sans traitement, le pronostic est sombre. On utilise l'amphotéricine B en perfusion.

**Sporotrichose :**

Mycose chronique de la peau et des tissus sous-cutanés, suivant le trajet des lymphatiques sous-cutanés ; bénigne le plus souvent, on l'observe surtout en Amérique centrale et méridionale et en Afrique du Sud.

- Examen histopathologique d'une biopsie : présence de granulomes à cellules géantes centrés par des levures bourgeonnantes en " navette " ou de " corps astéroïdes ".
- Examen mycologique d'une biopsie : identification de *Sporothrix schenckii*.

- Intradermoréaction à la sporotrichine : assez spécifique, elle est en fait surtout utile dans les enquêtes épidémiologiques.

## Blastomycose



*Blastomyces dermatidis, éclaircissement à la potasse.*

## DIAGNOSTIC D'UNE PNEUMOCYSTOSE

La pneumocystose à *Pneumocystis carinii* représente l'étiologie principale des affections pulmonaires au cours du SIDA. La recherche de *Pneumocystis* est un des examens nécessaires lors du suivi d'un immunodéprimé.

### Clinique :

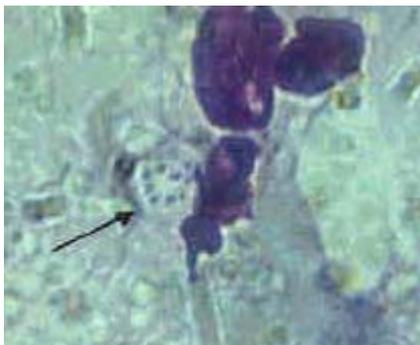
Installation de la pneumopathie sur un mode insidieux : petite fièvre, signes pulmonaires discrets (toux peu productive), signes radiologiques tardifs (de type pneumopathie interstitielle). Des formes disséminées ont été décrites, tous les sujets étaient porteurs d'une forme pulmonaire.

### Prélèvement et traitement du prélèvement :

Pratiquer un prélèvement d'expectorations induites. Centrifuger et réaliser des lames avec le culot. Fixer les lames bien sèches au méthanol pendant 2 minutes. Réserver une ou deux lames pour l'examen sans coloration, les autres seront colorées avec du Giemsa à 10 % pendant une quinzaine de minutes.

Pour colorer les kystes de *Pneumocystis carinii*, la technique de Gomori-Grocott par la méthode de Musto, reste la référence. Nous la donnons à titre indicatif, bien qu'excellente, elle est chère, longue et compliquée.

### Examen direct des lames sans coloration :



Il est long et difficile, les parasites étant de petite taille et difficiles à mettre en évidence. La plus grande rigueur est demandée pour cet examen.

On observe aux objectifs 10, 40.

*kystes en amas, faible grossissement, prélèvement de crachat, Giemsa*

En cas d'infestation massive, dès l'objectif 10, on observe des amas et/ou des kystes : plages hétérogènes bien délimitées, à contours irréguliers, réfringents. En utilisant l'objectif 100, on peut voir les trophozoïtes en mouvement dans les kystes.

## Examen des lames colorées :

Fort grossissement, Giemsa

On observe à l'objectif 100 après coloration au Giemsa :

- Des trophozoïtes : petits corps ovoïdes colorés en bleu, de 1-2 micromètres, au noyau rouge vif, d'identification difficile.
- Des kystes : leur paroi n'est pas colorée, seuls apparaissent les huit corps intrakystiques.



## Traitement :

- Cotrimoxazole à forte dose ( 12 X 480 mg/j) pendant 21 jours. Si le malade a des difficultés pour respirer, on peut administrer de la prednisone pendant la première semaine.
- En cas d'échec du traitement, on préconise une association Dapsone 100 mg/j + triméthoprime 20 mg/j pendant 20 jours.
- Dans les deux cas, un traitement d'entretien est nécessaire (+/- à vie).

## DIAGNOSTIC D'UN PYTIRIASIS VERSICOLOR

Mycose chronique superficielle, érythro-squameuse, fréquente, peu contagieuse, due à une levure lipophile : *Malassezia furfur*. En cas d'immunodépression (VIH entre autre), la pathologie est fréquemment rencontrée et peut présenter des aspects non typiques (rôle important du laboratoire)

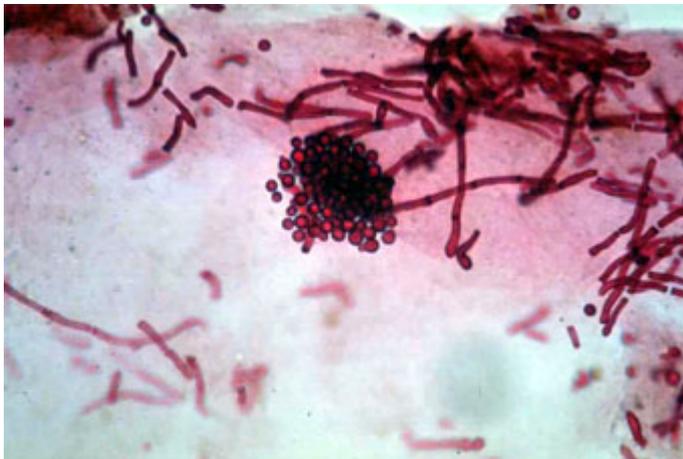
## Clinique :

Apparition de petites taches confluent en nappes squameuses à contour irrégulier. Le siège des lésions est variable : thorax, membres supérieurs et cou. Elles sont souvent achromiques et fluorescentes en lumière de Wood. Sur une peau noire, des formes nettement folliculaires sont souvent observées, et le cou et le visage sont souvent atteints. Attention, ce tableau peut simuler une dermatite séborrhéique.

Cette mycose est cependant assez caractéristique et le diagnostic clinique est généralement suffisant.

## Prélèvement :

Pratiquer un prélèvement à visée mycologique. Le grattage à la curette ou à l'ongle détache facilement des squames fins, d'un seul bloc, sans saigner. C'est le signe du copeau (très caractéristique).



## Diagnostic biologique :

Procéder à une recherche d'éléments mycéliens : éclaircir le prélèvement à la potasse et colorer au bleu de lactophénol. On observe :

- des filaments mycéliens courts, rectilignes ou flexueux
- des bouquets de spores rondes à paroi épaisse.

*Malassezia furfur*, coloration PAS

## Traitement :

En cas de lésions peu étendues, on utilise les conazolés, par exemple du miconazole à 2% pendant un mois. Pour les formes étendues, on préfère utiliser du disulfure de sélénium.

En outre, il faut changer de vêtements et repasser tout le linge et les draps avec un fer très chaud. La repigmentation ultérieure de la peau est lente.

## INSECTES PATHOLOGIQUES, MALADIES VÉHICULÉES, INSECTES VECTEURS

### Insectes directement pathogènes :

Gale  
Poux  
Tiques, larves et puces

### Maladies véhiculées par les insectes :

Rappel sur les insectes vecteurs

- Par les puces et les tiques
- Paludisme
- Trypanosomiase africaine
- Trypanosomiase sud-Américaine : maladie de Chagas
- Leishmaniose
- Filariose (Loa-Loa, onchocercose et filariose lymphatique)

### Identification d'un ectoparasite :

Éviter d'abîmer les parasites par des manipulations trop brutales et, autant que possible, les adresser vivants au laboratoire.

- Poux, morpions et lentes sont prélevés en coupant les poils sur lesquels ils se trouvent. Les sarcoptes de la gale et leurs œufs sont extraits de la vésicule perlée à l'aide d'un vaccinostyle, déposés dans une goutte d'eau sur une lame porte-objet et examinés immédiatement au microscope, objectif 4 ou maximum 10.
- Les tiques, dont le rostre est profondément enfoncé dans la peau, sont tuées à l'éther avant d'être extirpées délicatement à la pince pour éviter de rompre la tête in situ.
- Les puces-chiques et leurs œufs sont extraites à la curette ou au vaccinostyle.
- Les larves de mouches (myases, vers de Cayor) souvent enchassées dans le derme, doivent être extraites chirurgicalement.

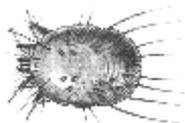
Les ectoparasites les plus fréquemment rencontrés sont :

- *Pediculus hominis capitis* ou *corporis* : pou de tête ou de corps.
- *Phthirus pubis* : morpion.
- *Sarcoptes scabiei* : gale.
- *Tunga penetrans* : puce-chique.
- *Pulex irritans* : puce de l'homme.
- Les agents des myases et les tiques (acariens) sont très nombreux.

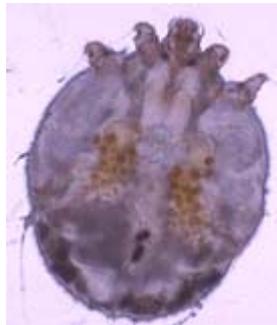
### DIAGNOSTIC DE LA GALE

Ectoparasitose, due à un acarien, *Sarcoptes scabiei*, transmise par contact cutané (très contagieux) ou par le linge, elle provoque un prurit et l'apparition de microvésicules perlées et de croûtelles sur tout le corps.

*Sarcoptes scabiei*



## Gale norvégienne et *Sarcoptes scabiei*



Les zones préférentielles sont les mains, les poignets, les aisselles, les organes génitaux et les fesses. Le prurit est intense, surtout au coucher, et est généralement familial ou communautaire. L'examen clinique retrouve les

lésions de grattage, les vésicules perlées et les sillons courbes et sinueux contenant le sarcopte. Les lésions sont souvent surinfectées.

En cas d'immunodépression ou de malnutrition, on peut observer une forme de gale croûteuse dite "Norvégienne" (photos). Les croûtes sont riches en sarcoptes, cette forme est excessivement contagieuse.

Le diagnostic est surtout clinique. De plus le grattage détruit le sarcopte. Cependant, lors de gale surinfectée siégeant au niveau génital, on peut confondre la maladie avec une syphilis ou un chancre mou.

Le prélèvement se rapproche d'un prélèvement à destinée mycologique : on gratte à la curette les squames et les petites vésicules, on les dépose sur une lame en ajoutant une goutte de sérum physiologique et on observe à l'objectif 10, à la recherche de sarcoptes adultes (taille 250 µm, rare) et d'œufs (plus fréquent).

### Traitement :

- Faire bouillir le linge ou les draps.
- Laver le malade en le savonnant, puis appliquer sur la peau mouillée une lotion de Benzoate de benzyle (disponible en générique). Recommencer l'application 15 minutes après puis 24 heures après.

## DIAGNOSTIC D'UNE PÉDICULOSE ET D'UNE PHTIRIASE

Ectoparasitoses dues à :

- *Pediculus capitis* : pou de tête, responsable de la pédiculose du cuir chevelu
- *Pediculus corporis* : pou de corps, responsable de la pédiculose du corps
- *Phthirus pubis* : pou génital (plus connu sous le nom de "morpion"), responsable de la pédiculose pubienne.



Ces parasites sont hématophages, leur salive est responsable d'une irritation locale, entraînant un prurit responsable de lésions de grattage exposant à un risque de surinfection secondaire.  
"Morpion" et lentes fixés aux cheveux



Les femelles pondent de nombreux oeufs (les lentes) qui éclosent en 8 jours.

Le diagnostic est uniquement clinique, les parasites sont vus à l'œil nu ou avec une simple loupe :

- Les poux de tête sont retrouvés sur le cuir chevelu et les lentes à la base des cheveux. Ils font environ 2 mm de long, possèdent 3 paires de pattes et sont gris. Les lentes font environ 1 mm, sont blanchâtres et operculées, solidement fixées au cheveu. Elles sont plus fréquemment retrouvées que les poux.
- Les poux de corps sont presque les mêmes que les poux de tête, ils sont juste légèrement plus grands : 3 mm. On les retrouve rarement sur le corps, ils vivent sur les vêtements qu'ils ne quittent que pour se nourrir. On retrouve les lentes fixées sur les poils, généralement du torse.
- Les morpions sont plus petits (1 -1.5 mm), mais plus trapus. Ils ont aussi 3 paires de pattes. Ils ont besoin de poils épais pour se fixer : on peut donc aussi les retrouver sous les bras, dans la moustache, ou même sur les cils ou sourcils.

Le laboratoire intervient dans les surinfections induites par le grattage.

Ces infections sont bénignes. Cependant, *Pediculus corporis* peut être un vecteur de maladie (rickettsiose, borréliose). On peut se reporter aux maladies véhiculées par les poux, les tiques et les puces.

**Traitement :**

- Désinfection du linge et des draps
- Utilisation d'insecticides : lindane ou pyréthriinoïdes
- Laver et peigner la chevelure, extirper les poux et les lentes.
- Recommencer l'opération 10 jours après (éclosion des lentes)

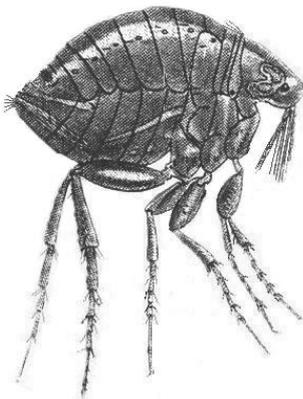
## DIAGNOSTIC DES INFECTIONS PAR TIQUES, PUCES ET MYIASES

**Tiques :**

*Rhipicephalus sanguineus*, tique du chien

Ectoparasitose cosmopolite, dues à des acariens hématophages à 4 paires de pattes entraînant une papule inflammatoire cutanée, éventuellement un oedème.

Les tiques peuvent être le vecteur de nombreuses pathologies générale : se reporter aux maladies véhiculées par les tiques, les poux et les puces.



**Puce-chique :**

*Tunga penetrans*, puce-chique (1 mm)

La tungose, ou infestation par puce-chique, est

habituellement bénigne mais elle peut se surinfecter. On la retrouve en Amérique, en Afrique noire (surtout sur les côtes) et à Madagascar.

Les adultes vivent sur le sol puis sautent sur des mammifères (surtout le porc) pour se nourrir de sang puis se détachent. Les femelles fécondées restent fixées dans l'épiderme, grossissent, forment une poche blanchâtre de 5 à 8 mm contenant environ 250 oeufs, qui sont libérés à l'extérieur. La femelle se dessèche ensuite.

L'atteinte la plus fréquente siège au pied, elle peut être multiple. On note un prurit, un gonflement et une douleur locale puis, au bout de 4-5 jours, un érythème centré autour d'un point blanchâtre.

Le diagnostic clinique est évident. Le laboratoire intervient lors des surinfections cutanées engendrées par le grattage.

Traitement : extraction du parasite entier, désinfection de la cavité à l'alcool iodé, décontamination du sol par de la poudre DDT.

**Myiases :**

Les myiases sont des affections dues à des larves de mouches.

Myiases superficielles :

- des plaies, entre autre *Cochliomyia hominivorax*, en Amérique du Sud, cause des dégâts considérables dans les cartilages et les os.
- de la peau, ce sont surtout des vers vivant sur le sol qui piquent l'homme la nuit.

### Myiases des orifices naturels :

- oeil : Ophtalmomyiase d'Afrique du Nord, notion de contact avec les moutons
- nez : de nombreuses mouches peuvent être la cause de nasomyiase, les surinfections sont fréquentes, avec parfois perforation de la cloison nasales
- oreilles : rare, uniquement en cas d'infection, car le cérumen est toxique pour les mouches.

### Myiases sous-cutanées :

- furonculaire : abcédation cutanée douloureuse de laquelle sort une larve, au milieu d'une sérosité sanglante. En Afrique, le ver de Cayor est souvent rencontré, la larve sort en 15 jours.
- rampante : pénétration de parasites d'herbivores au niveau d'un follicule pileux, abcédation puis sortie du ver.

### Myiases profondes :

- Attaque du système nerveux par des hypodermes, surtout chez les enfants. On peut observer une méningite à éosinophiles, des convulsions. Évolution favorable.

### Rôle du laboratoire :

- Diagnostic différentiel avec d'autres pathologies
- Diagnostic des surinfections.

## INSECTES PIQUEURS VECTEURS DE MALADIES

| TYPE       | NOM      | MALADIE               | PHOTO  |
|------------|----------|-----------------------|--|
| MOUSTIQUES | anophèle | Paludisme             |  |
|            | culex    | Filariose lymphatique |  |

|                         |             |  |  |
|-------------------------|-------------|--|--|
|                         | phlébotomes | Leishmanioses  |    |
|                         | aedes       | Fièvres hémorragiques virales : Fièvre Jaune, Dengue |    |
|                         | divers      | Arboviroses diverses                                 |  |
| <b>MOUCHERONS</b>       | simulies    | Onchocercose   |   |
|                         | glossines   | Trypanosomiase africaine (maladie du "sommeil")      |  |
| <b>MOUCHES ET TAONS</b> | chrysops    | Filariose Loa-Loa                                    |  |

|               |          |  |  |
|---------------|----------|--|--|
| <b>DIVERS</b> | triatome | Trypanosomiase<br>américaine<br>(maladie de<br>Chagas) |  |
|---------------|----------|--|--|

## MALADIES VÉHICULÉES PAR LES POUX, LES PUCES ET LES TIQUES

### *Piqûres de puces*

#### **Rickettsioses**

Anthropozoonoses dues aux rickettsies, bactéries intracellulaires obligées, transmises par la morsure d'un arthropode vecteur jouant parfois le rôle de réservoir.

Les rickettsioses sont classées selon le vecteur, en sachant que puces et tiques transmettent les typhus et les acariens les fièvres pourprées. Les fièvres Q ne sont plus classées parmi les Rickettsioses, elles seront détaillées par la suite.



#### **Les typhus**

Les typhus sont dus à *Rickettsie prowazeki* transmis par les déjections (et accessoirement par l'écrasement) du pou de corps : *Pediculus corporis*. Il se contamine au contact de l'homme, seul réservoir, et peut longtemps être porteur de la bactérie. La maladie évolue surtout sur le mode épidémique dans des conditions de catastrophe naturelle, de famine ou de guerre.

Après pénétration cutanée, les rickettsies envahissent les endothéliums vasculaires en y déterminant une endothélite proliférante avec infiltrat lymphoplasmocytaire ou nécrosant: la lésion commune retrouvée est le nodule de Frankel. Ils protègent les micro-organismes pendant de longues périodes, expliquant la possibilité de récurrence.

1- Le typhus exanthématique (ou encore historique) incubation de 1 à 3 semaines.

Clinique :

- Phase d'invasion : débute brutalement par des céphalées et des rachialgies intenses accompagnées d'une ascension thermique rapide avec frisson 'solennel'. En zone d'endémie (Afrique, essentiellement Éthiopie, Amérique du Sud), le diagnostic est classiquement évoqué quand existent un syndrome grippal associé à des trémulations linguales.
- Phase d'état : l'éruption apparaît à la défervescence thermique. Elle est constituée d'une poussée d'éléments maculo-papuleux de taille variable prédominant sur le tronc et l'abdomen, respectant la face, les plantes et les paumes. Secondairement, l'exanthème peut devenir pétéchiial voire hémorragique. Dans le même temps, les conjonctives sont injectées, la langue et les lèvres fissurées. On est frappé par la présence d'un tufhos (état de prostration, indifférence, inversion du sommeil souvent accompagnée de troubles psychiques le plus souvent nocturnes). Hépatosplénomégalie.
- Évolution : la maladie dure 2 semaines et la guérison est annoncée par une crise polyurique avec parfois recrudescence passagère des symptômes  
Les complications sont rares si la personne est traitée : complications myocardiques, encéphalites, gangrène d'origine artérielle, thrombophlébite veineuse. Les rechutes connaissent une évolution bénigne.

Diagnostic différentiel :

Paludisme, salmonelloses ou viroses tropicales peuvent être discutées mais les borrélioses constituent le principal diagnostic différentiel en raison d'une même répartition géographique et de l'intervention des poux.

## 2- Les autres typhus :

|                                       | Agent pathogène   | Vecteur          | Épidémiologie   | Aspects cliniques   |
|---------------------------------------|-------------------|------------------|---|---|
| Fièvre des tranchées ou fièvre des 5j | <i>R quintana</i> | pou de corps     | - décrite pendant la 1 <sup>o</sup> guerre mondiale<br>- intérêt historique | - forme où les arthralgies et tibialgies seraient évocatrices<br>- poussées exanthématiques tous les 5j             |
| Typhus murin                          | <i>R typhi</i>    | puce de rat noir | - commune dans les zones tropicales d'Afrique, d'Amérique et d'Asie         | - extension de l'exanthème à la plante et aux paumes, mais respectant toujours la face<br>- grave chez le vieillard |
| 'Nouveau typhus'                      | <i>R canada</i>   | tique            | - récemment décrite en Amérique du sud                                      | - évolution grave   |

### Les fièvres pourprées

1- la fièvre boutonneuse méditerranéenne : incubation d'1 semaine

Elle est due à *Rickettsie conori*. Le vecteur-réservoir de bactéries est un tique, *Rhipicephalus sanguineus*, qui transmet l'agent pathogène à sa descendance.

Clinique :

- La phase d'invasion est similaire à celle de la fièvre exanthématique ou parfois plus progressive, montrant un tableau infectieux sans particularité. L'éruption survient précocement, pendant la phase d'invasion, et se manifeste par un érythème papulo-nodulaire débutant soit sur le tronc soit sur les membres, mais envahissant bientôt l'ensemble des téguments
- Phase d'état :
  - les macules rosées initiales s'effaçant à la pression sont suivies au bout de 48h de papules cuivrées
  - chaque papule va s'affaïsser, s'entourant d'une fine desquamation et laissant transitoirement une zone pigmentée résiduelle
  - plusieurs poussées se succèdent, les anciens éléments coexistant avec les nouveaux
- Évolution : la guérison est obtenue en 8 à 10j, sans séquelles. Les possibles complications sont *une myocardite, une gangrène ou une phlébite ou encore un syndrome méningé*

## 2) Les autres fièvres pourprées

|   | Agent pathogène        | Vecteur                         | Épidémiologie                                       | Aspects cliniques  |
|---|------------------------|---------------------------------|---|--|
| Fièvre à tique américaine               | <i>R rickettsi</i>     | tique Dermacentor               | - Amériques du nord et Centrale, ainsi qu'au Brésil | - érythème débutant aux chevilles et aux poignets, puis généralisé et purpurique<br>- complications possibles en l'absence de traitement   |
| Rickettsial pox ou fièvre vésiculeuse   | <i>R akari</i>         | gamasidés, acariens             | - Russie<br>- mines d'Afrique du sud                | - incubation longue<br>- éruption varicelliforme<br>- évolution très favorable   |
| Scrub typhus ou typhus des broussailles | <i>R tsutsugamuchi</i> | larve hexapode des thrombididés | -Asie<br>- récemment décrite en Amérique du sud     | - peu différent de la fièvre boutonneuse méditerranéenne avec la présence de chancres d'inoculation multiples<br>- évolution parfois grave |

### Diagnostic biologique :

Orientation :

- polynucléose neutrophile modérée
- syndrome mononucléosique

En pratique, le diagnostic est surtout sérologique par immunofluorescence indirecte, ou par agglutination de particules sensibilisées (plus accessible à des laboratoires tropicaux). L'apparition des anticorps est précoce et l'on a fixé à 40 le seuil de positivité de la réaction.

**Traitement :**

- Doxycycline 200mg/j pendant 15j.
- Les autres antibiotiques actifs sur les formes intracellulaires (macrolides, rifampicine) peuvent aussi être utilisés, en particulier chez l'enfant chez qui les tétracyclines sont contre-indiquées.
- L'héparinothérapie préventive sous-cutanée est justifiée chez le sujet âgé

**Fièvre Q ou coxiellose**

L'agent pathogène est *Coxiella burnei*, c'est une affection mondiale car de très nombreux mammifères sauvages ou domestiques servent de réservoir. Auparavant classé parmi les Rickettsie.

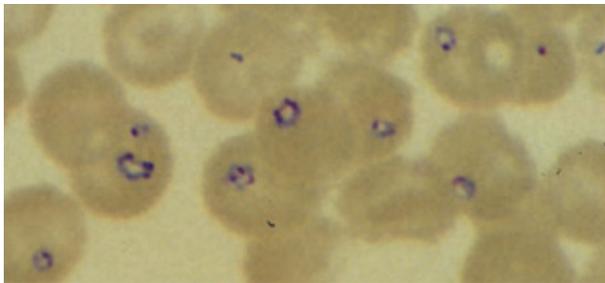
Contamination par voies aérienne, cutanée ou muqueuse, soit directement, soit par l'intermédiaire de poussières contaminées.

Clinique :

- Forme pulmonaire : pneumopathie atypique fébrile avec atteinte respiratoire discrète alors que la radiographie pulmonaire est plus démonstrative. Évolution bénigne. Possibles complications.
- Forme typhoïde : fièvre en plateau avec pouls dissocié et hépatomégalie. Évolution favorable mais parfois lente.
- Forme chronique après l'infection aiguë.

Diagnostic : Mise en évidence des anticorps, NFS : formule normale ou leucopénie, ce qui contraste avec la fièvre élevée.

Traitement des formes aiguës : tétracyclines, rifampicine, fluoroquinolones éventuellement associées par 2, pendant 2 à 3 semaines.



**Babésiose ou Piroplasmose**

*Babesia microti*, Giemsa

Zoonose exceptionnellement transmise à l'homme par des tiques (*Ixodes scapularis*), atteignant surtout les sujets splénectomisés. Les protozoaires se multiplient dans les hématies et provoquent une symptomatologie proche du paludisme.

- NFS : anémie hémolytique, hyperleucocytose, thrombopénie, monocytose.
- Hémoglobinurie.
- Frottis sanguin : révèle la présence de parasites du genre *Babesia*, qui peuvent parfois être confondus avec des *plasmodium*.

**Peste**

Toxi-infection à *Yersinia pestis* transmise par piqûre de puce, comportant généralement un bubon fébrile, plus rarement une pneumopathie ou une septicémie.

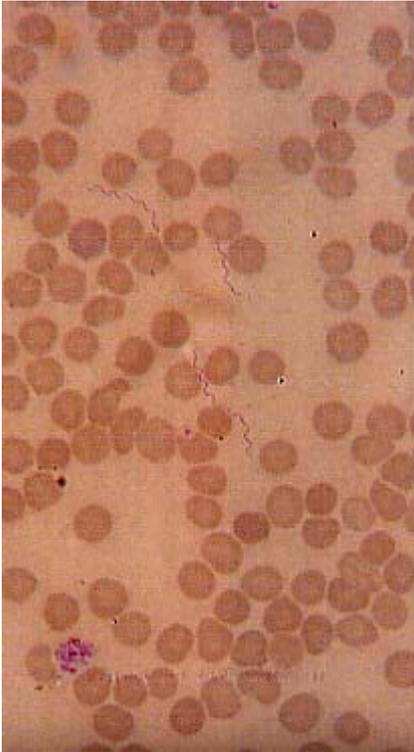
La maladie évolue rapidement vers une dissémination pluri-organique et mort en 3-5 jours après la piqûre dans 30 à 70 % des cas.

Le diagnostic est évoqué cliniquement devant une adénite aiguë très douloureuse, très fébrile, avec une forte altération de l'état général, et un séjour en zone endémique.

Examen direct d'un produit de ponction de l'adénite ou d'un produit d'expectoration en cas de forme pulmonaire, parfois de la phlyctène située au point de morsure de la puce : présence du germe, un bacille Gram négatif

**Tularémie**

Zoonose due à *Francisella tularensis* transmise soit par contact direct avec des lapins ou par morsure de tique (forme lymphadéno-pathique), soit par inhalation (forme pulmonaire), rarement par ingestion (forme intestinale). La clinique est très évocatrice



Étude bactériologique avec coloration de Gram : le coccobacille Gram négatif est rarement mis en évidence. La sérologie est possible.

#### **Borréliose :**

**Maladie de Lyme :** Maladie pouvant affecter différents systèmes et due à un ensemble de bactéries spiralées, regroupées sous le terme de *Borrelia burgdorferi*. Les vecteurs sont des tiques *Ixodidae* du groupe *Ixode ricinus*.

L'épidémiologie est liée aux zones de répartition et à la période d'activité du vecteur, soit avril à septembre. Des syndromes autrefois décrits comme polyradiculonévrites (Guillain-Barré) ou autre sont à rattacher à la borréliose de Lyme

**Fièvre récurrente à tiques :** Elle est provoquée par une douzaine de spirochètes différents transmis par des tiques molles (Ornithodores) surtout répandues dans les climats chauds.

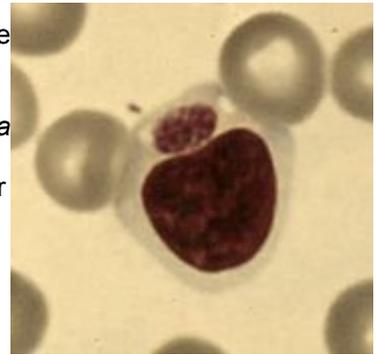
*Borrelia recurrentis, Giemsa*

#### **Ehrlichioses :**

Germe intracellulaire gram négatif, du genre *Ehrlichia* donnant des syndromes infectieux sévères, rash, ictère avec leucopénie, neutropénie et hyperbilirubinémie modérée.

*Ehrlichia chaffeensis, Giemsa*

Infection décrite en Amérique en 1986, due à *Ehrlichia chaffeensis* (ou à d'autres types d'*Ehrlichia*), bactérie intracellulaire à Gram négatif transmise par morsure de tique, réalisant un syndrome fébrile avec céphalées, nausées et myalgies, résolutif en une à deux semaines, sensible à la tétracycline.



- NFS : leucopénie avec thrombopénie.
- Créatininémie : élévation passagère fréquente.
- Frottis sanguin : inclusions dans les polynucléaires neutrophiles, inconstantes.

## **PROTOZOAIRES**

- Amibiase
- Balantidiose
- Blastocystose
- Chilomastiose
- Coccidioses
- Giardiase
- Leishmaniose cutanée et viscérale
- Microsporidiose
- Paludisme
- Trichomonase
- Trypanosomiasis

### **DIAGNOSTIC D'UNE AMIBIASE**

**Épidémiologie :** amibe pathogène du tube digestif

- Contamination : eau et aliments (crudités) souillés par les kystes
- Cycle :
  - Non pathogène (infestation) : présence intra-luminale de formes végétatives minuta et de kystes
  - Pathogène (maladie) : pénétration de la forme histolytica dans la muqueuse colique avec essaimage viscéral possible.

- Répartition : le plus souvent dans les régions chaudes et humides avec un bas niveau d'hygiène (péris fécal).
- Prophylaxie : désinfection de l'eau de boisson, de l'eau de lavage des aliments. Construction de latrines.

### Signes cliniques :

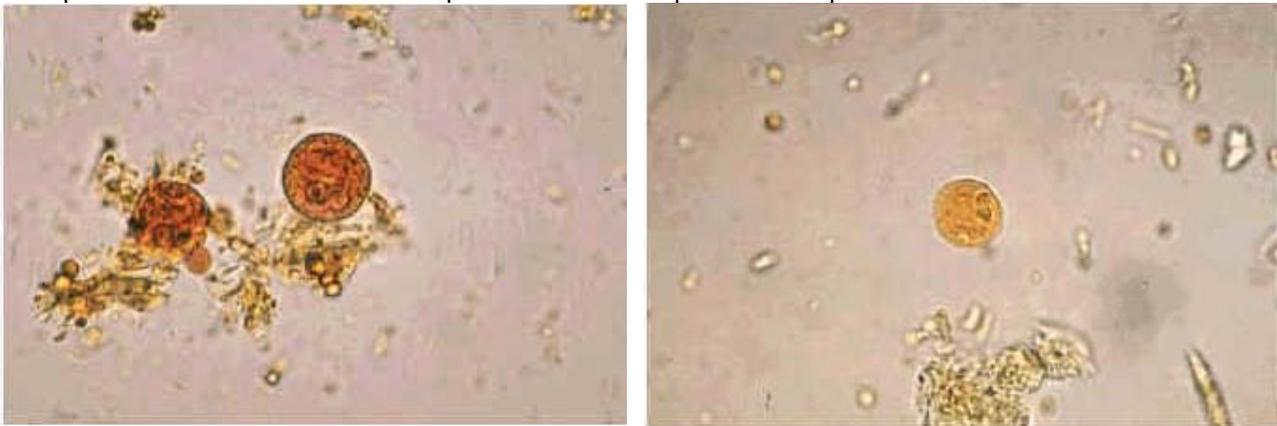
- Amibiase intestinale aiguë :  
Syndrome dysentérique sans fièvre avec selles liquides afécales, glaires sanglantes accompagnées de ténésmes et d'épreintes. Sans traitement, évolution vers une colite post-amibienne et/ou un essaimage viscéral.
- Amibiase tissulaire :  
le plus souvent hépatique (plus rarement pulmonaire ou encore cérébrale). Signes variables, de l'hépatite diffuse à l'abcès hépatique. Altération de l'état général, fièvre, hépatomégalie douloureuse, parfois syndrome pleuropulmonaire de la base droite.

### Prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de selles, l'analyser juste après l'émission.

### Traitement du prélèvement :

Pratiquer un examen direct avant et après concentration par la technique de Ritchie.



*Kyste d'amibe à 1, 2 et 4 noyaux, Lugol*

### Examen direct :

On recherche les formes kystiques et les formes végétatives. On peut colorer au Lugol pour observer les kystes (formes végétatives tuées).

La forme végétative histolytica signe l'amibiase aiguë, la forme minuta le porteur sain, ancien amibien non ou mal traité.

Après concentration par Ritchie, on n'observe plus que les kystes.

Attention au diagnostic différentiel avec les kystes d'amibes non pathogènes : se reporter au tableau de la différenciation des kystes d'amibes ou encore aux schémas des kystes.

### Examens complémentaires :

- Amibiase intestinale : Numération des leucocytes, Formule et VS normales
- Amibiase hépatique : hyperleucocytose à Polynucléaires neutrophiles, VS très augmentée ( jusqu'à 100 à la première heure). Pas d'hyperéosinophilie en l'absence de toute infection intercurrente.

### Traitement habituel / évolution / contrôles d'efficacité :

- Amibiase intestinale Métronidazole 40-50 mg/Kg/j chez l'enfant, 2 grammes par jour chez l'adulte. Traitement de 10 jours.
- Amibiase tissulaire : traitement chirurgical essentiellement.

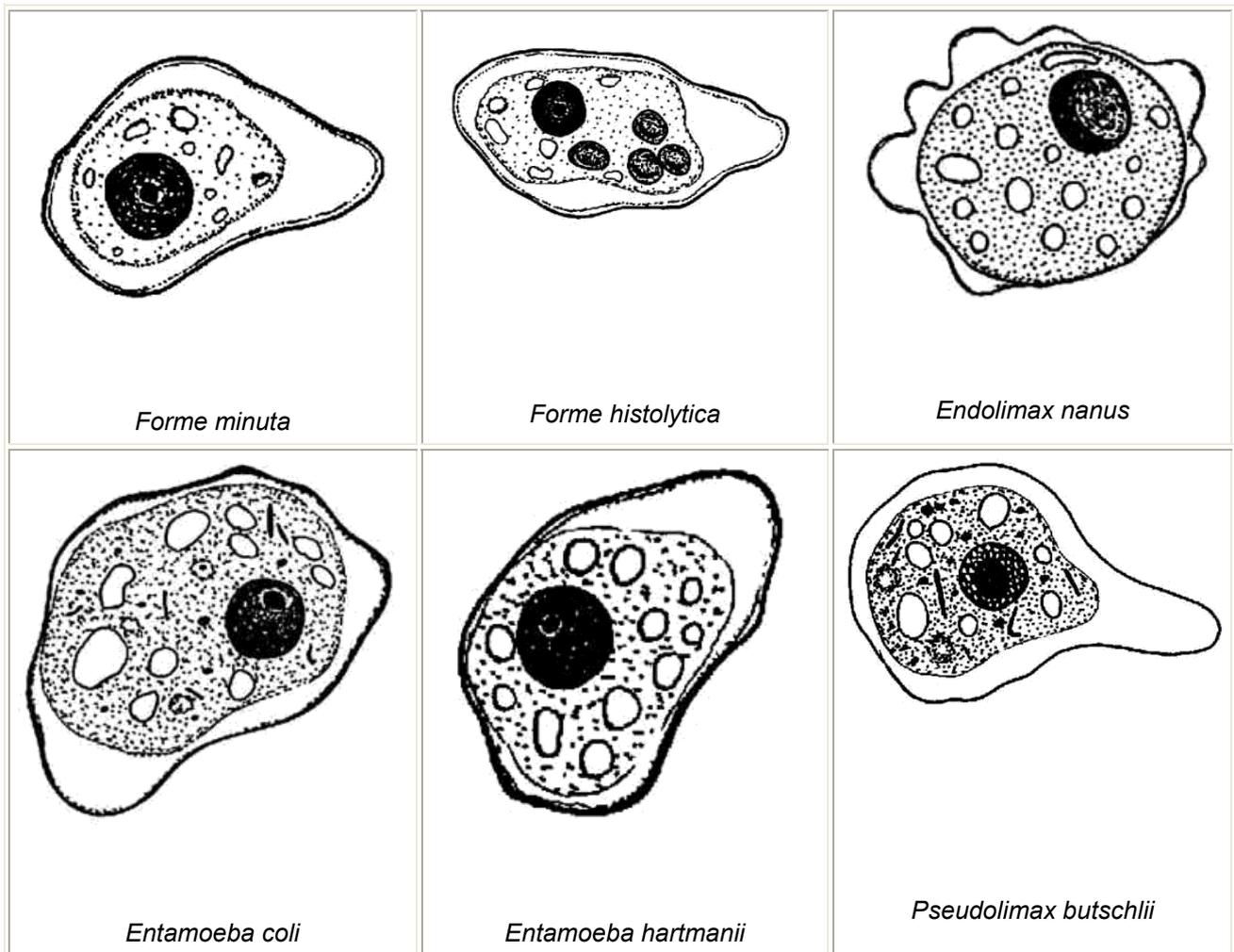
Évolution favorable sous traitement, mais évoluant vers une colite définitive en l'absence de traitement. En cas de signes cliniques évocateurs, mais de parasitologie des selles négative, il est conseillé de répéter l'examen à quelques jours de distance.

Un contrôle d'efficacité peut être réalisé à la fin du traitement en cas de réapparition des symptômes.

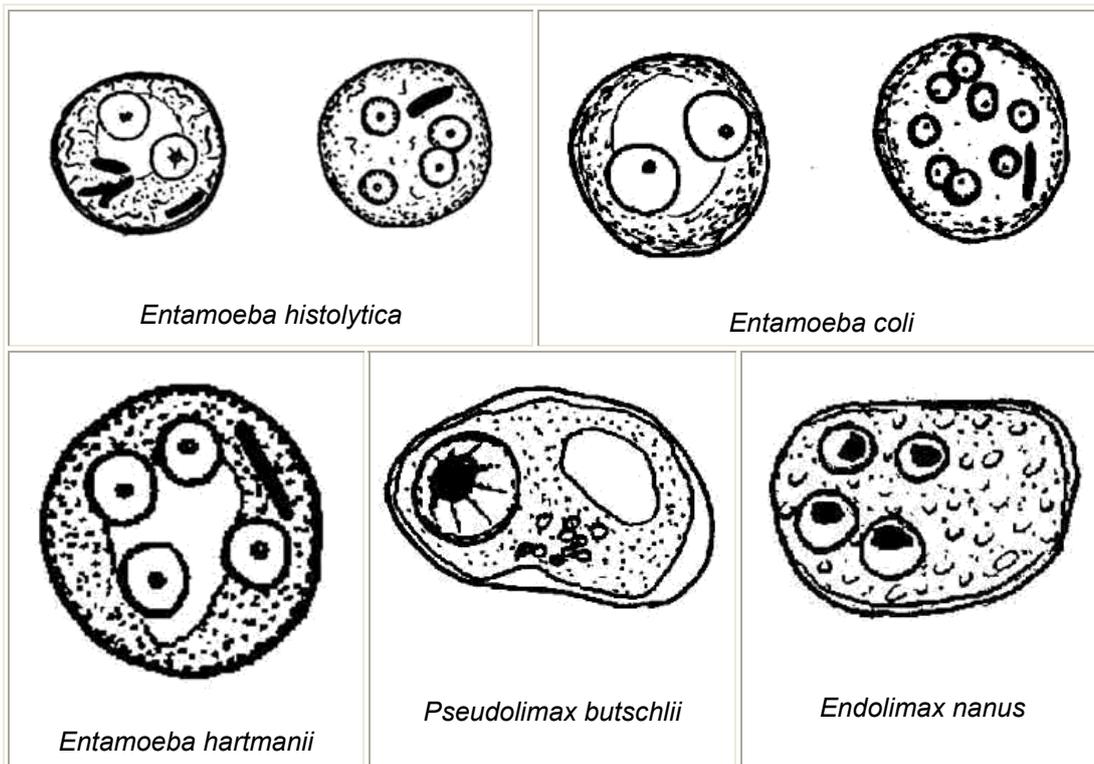
### DIFFERENCIATION DES KYSTES D'AMIBES

| Nom               | <i>Entamoeba coli</i> | <i>Entamoeba histolytica</i> | <i>Entamoeba hartmanni</i> | <i>Pseudolimax butschlii</i> | <i>Endolimax nanus</i> |
|-------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------|
| Taille en microns | 15-30                 | 12-14                        | 6-10                       | 8-15                         | 7-12                   |
| Nbre noyaux       | 8 (16-32)             | 4                            | 4                          | 1                            | 1-4                    |
| Réfringence       | +++                   | +                            | +                          | +++                          | +/-                    |
| Cristalloïdes     | aiguilles             | saucisses                    | saucisses                  | /                            | /                      |
| Vacuoles          | /                     | /                            | /                          | grande                       | /                      |
| Formes            | Sphérique - ovale     | sphérique                    | sphérique                  | variable                     | Arrondi - ovale        |
| Déformabilité     | possible              | rare                         | rare                       |                              |                        |

### FORMES VÉGÉTATIVES D'AMIBES



### KYSTES D'AMIBES



## BALANTIDIOSE

**Épidémiologie :** protozoose du colon due à *Balantidium Coli*. Parasite fréquent du porc, la balantidiose est un parasite fréquent en pays chauds, favorisée par la chaleur, l'humidité et la mauvaise hygiène. Les professionnels en contact avec les porcs sont les plus exposés.

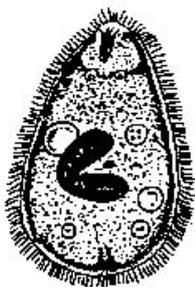
### Signes cliniques :

Syndrome dysentérique pseudo-amibien. Les porteurs chroniques s'exposent à des risques de perforation cœcale ou d'hémorragies. Il n'est pas rare de voir la balantidiose entraîner des chutes de poids importante.

### Prélèvement et traitement du prélèvement:

Pratiquer un prélèvement de selles.

Examen direct avant et après concentration par Ritchie. Coloration possible par MGG.



### Examen direct :

#### Formes végétatives :

A l'état frais, observation d'éléments volumineux ovoïdes de 50-200 X 40-70  $\mu\text{m}$  pointus à l'extrémité antérieure, noyau volumineux réniforme disposé transversalement. Parasite progressant rapidement de manière continue. Après coloration, on voit des cils recouvrant le corps surtout au niveau d'une dépression où ils sont plus longs.

#### Kystes :

A double paroi, de grande taille (50-60  $\mu\text{m}$ ) ovoïdes ou sphériques, au contenu granuleux avec un gros noyau réniforme.

### Examens complémentaires :

En cas de parasitose prononcée, un dosage de l'hémoglobine pourra être effectué

### Traitement habituel / évolution / contrôles d'efficacité :

Le traitement repose sur l'utilisation de tétracyclines pendant 10 jours. En cas d'impossibilité, on utilisera du métronidazole pendant 5 jours..



## DIAGNOSTIC D'UNE BLASTOCYTOSE

*Blastocystis hominis* est un protozoaire à la limite du pathogène chez l'immunocompétent (diarrhée discrète). Par contre, chez l'immunodéprimé (SIDA), il est responsable de diarrhées aqueuses pouvant être sévères et prolongées.

#### **Prélèvement et traitement du prélèvement :**

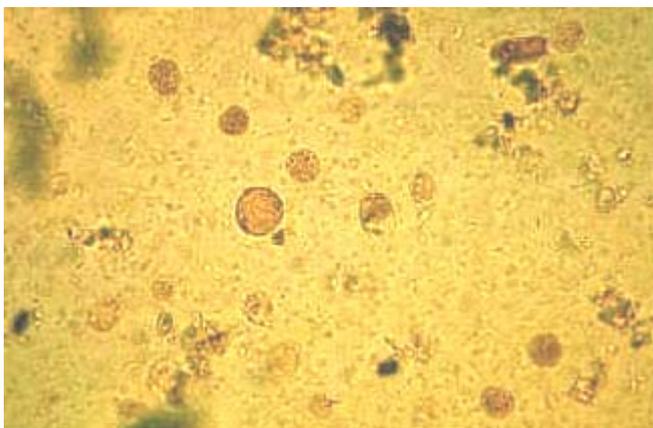
Pratiquer un prélèvement de selles puis réaliser un examen direct. Procéder ensuite à des étalement de selles sur une lame, laisser sécher à l'air puis réaliser un examen direct, les lames peuvent ensuite être éventuellement colorées au Giemsa.

#### **Examen direct :**

*B. hominis, fort grossissement*



A l'état frais, on observe, sur une même préparation, des organismes de taille variable (6-40  $\mu\text{m}$ ), caractérisés par un corps central de grande taille (les 2/3 du blastocystis), optiquement vide (ressemblant à une vacuole). Une couronne externe très réfringente renferme un ou plusieurs noyaux.



Après coloration de Giemsa, la couronne apparaît colorée en rose, et les noyaux bien ronds, de taille voisine du  $\mu\text{m}$ , apparaissent colorés en bleu (taille et coloration plus faible que les noyaux des leucocytes). La densité parasitaire doit toujours être précisée.

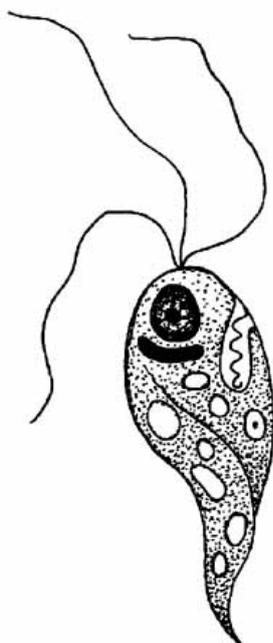
*B. hominis, examen direct. Noter les différences de taille*

#### **Traitement :**

Préférer l'abstention thérapeutique chez le sujet immunocompétent chez qui on observe un faible parasitisme. Utiliser le métronidazole (2 g/j) pendant

5-10 jours ou encore le cotrimoxazole (800 + 160 mg/j) pendant 10 jours.

## **DIAGNOSTIC D'UNE CHILOMASTIOSE**



*Chilomastix mesnili* est un protozoaire flagellé.

#### **Clinique :**

Diarrhée sans aggravation par l'immunodépression

#### **Prélèvement :**

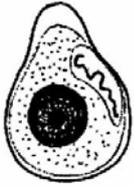
Pratiquer un prélèvement de selles et réaliser un examen direct. Réaliser aussi des étalement que l'on laisse sécher à l'air puis que l'on colore au Giemsa.

#### **Examen direct :**

##### **Trophozoïte :**

A l'état frais, on observe un flagellé mobile (déplacement rapide et saccadé en vrille) de 17 X 5  $\mu\text{m}$  environ, avec un sillon de torsion visible. Extrémité postérieure très effilée, 3 flagelles antérieurs, nombreuses vacuoles alimentaires.

Après coloration, on observe un cytoplasme clair vacuolé, un gros noyau antérieur, et un cytostome contenant un court flagelle. L'extrémité effilée est très visible, les flagelles inconstants.



**Kyste :**  
Piriforme, 8 X 5  $\mu\text{m}$ , à coque épaisse (surtout à l'apex), contenant un gros noyau excentré et un pinceau de flagelles dans une vacuole allongée.

**Traitement :**  
Métronidazole 1.5 g/j pendant 5 jours.

## DIAGNOSTIC D'UNE COCCIDIOSE

- *Isospora belli*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Cyclospora cayetanensis*
- *Sarcocystis hominis*

## DIAGNOSTIC D'UNE ISOSPOROSE

*Isospora belli* est un parasite de l'intestin grêle connu depuis plus d'un siècle. L'homme se contamine par ingestion d'oocystes murs. En effet, les oocystes que l'homme rejette dans les selles après 20 jours ne sont pas directement contaminants et nécessitent une maturation.

La recherche d'*Isospora belli* est un des examens nécessaires chez l'immunodéprimé.

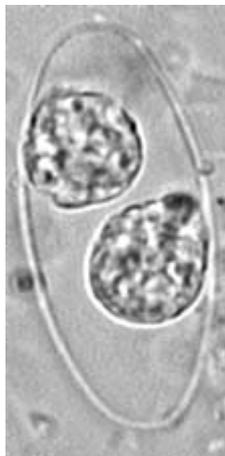
### Clinique :

Incubation de 5-6 jours puis entérocolite fébrile avec diarrhée et signes digestifs. Chez l'immunodéprimé, les diarrhées peuvent durer des mois avec déshydratation, troubles ioniques et perte de poids pouvant être considérable.

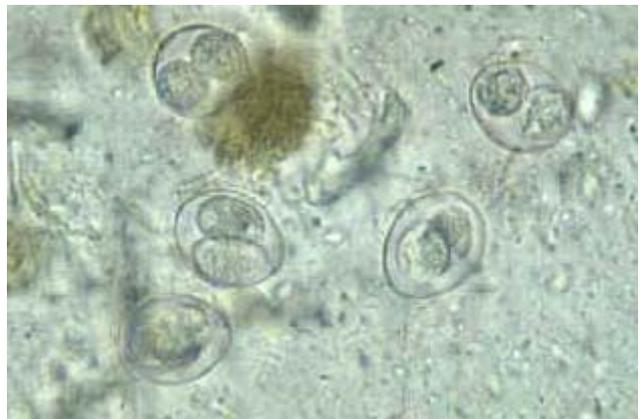
### Prélèvement et traitement du prélèvement :



*oocystes à un sporoblaste, fort grossissement*



*oocystes à deux sporoblastes*



*sporocystes, examen direct, faible grossissement*

Pratiquer un prélèvement de selles puis un examen direct avant et après concentration par la méthode de Ritchie. On recherche des oocystes dans les selles : ces oocystes sont émis 20 jours après la contamination soit une quinzaine de jours après les signes cliniques. De plus, ces oocystes sont émis de façon discontinue dans les selles, on conseille donc de répéter les examens dans le temps.

Ces oocystes, de taille moyenne de 27 x 14  $\mu\text{m}$  sont très réfringents, comportent une extrémité effilée et une extrémité arrondie. A l'intérieur on observe un ou deux sporoblastes très granuleux.

Il est possible de procéder à une sporulation des oocystes dans une solution de bichromate de potassium à 2 %. Cependant, la taille et l'aspect caractéristique des oocystes rend cet examen peu utile.

### Traitement et contrôles d'efficacité :

Chez l'immunocompétent : cotrimoxazole (800 mg/j + 160 mg/j) pendant 10 jours

Chez l'immunodéprimé : même traitement, suivi d'une deuxième cure de 10 jours à demi-posologie puis d'un traitement d'entretien de 400 + 80 mg/j, trois jours par semaine.

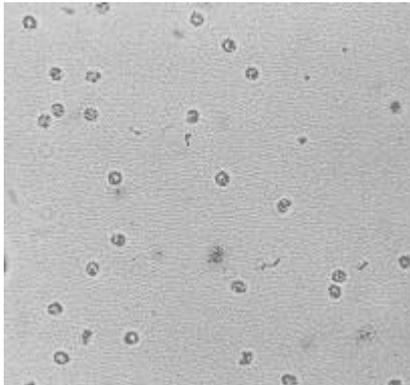
Un contrôle parasitaire est conseillé chez l'immunodéprimé.

## DIAGNOSTIC D'UNE CRYPTOSPORIDIOSE

*Cryptosporidium parvum* est la cryptosporidie le plus souvent rencontrée chez l'homme. C'est un parasite fréquemment mis en cause dans les diarrhées chroniques de la personne VIH positive (15-20 %). Le cycle se déroule dans l'épithélium intestinal, plus rarement respiratoire. Il aboutit à la l'émission dans les selles d'oocystes sporulés contenant chacun 4 sporozoïtes.

### Clinique :

Diarrhée spontanément résolutive chez l'immunocompétent mais responsable d'une diarrhée alternant des phases de rémission puis de reprises, pouvant être mortelle chez l'immunodéprimé.



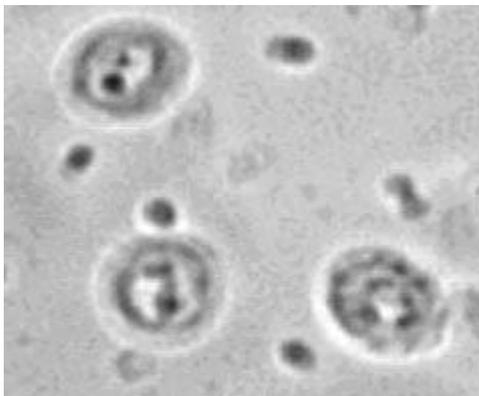
#### Prélèvement, traitement du prélèvement :

##### Faible grossissement

Pratiquer un prélèvement de selles puis réaliser un examen direct avant et après concentration par la méthode de Ritchie. Attention, les oocystes sont directement contaminants.

##### Examen direct :

On observe des oocystes arrondis, réfringents, de 4 à 6 µm de diamètre, contenant un corps résiduel et une vacuole. Ces éléments peuvent être confondus avec les levures, on peut alors rajouter une goutte de Lugol qui colorera les levures en brun.



##### Fort grossissement

Après l'examen direct de la concentration, retirer délicatement la lamelle puis laisser soigneusement sécher la lame. Pratiquer ensuite une coloration de Ziehl.

Les oocystes apparaissent colorés en rose vif sur fond vert. Ils ne sont cependant pas tous colorés, exposant la méthode à des risques de faux négatifs.

##### Traitement, contrôle d'efficacité :

Les sujets immunocompétents ne sont pas traités.

Chez l'immunodéprimé, on utilise (à défaut de médicament spécifique) la spiramycine. Un contrôle sera effectué 15 jours après la crise.

## DIAGNOSTIC D'UNE CYCLOSPOROSE

La présence de *Cyclospora cayetanensis* dans les selles a été associée à des épisodes de diarrhées prolongées et sévères chez des patients VIH positif. Son cycle est encore inconnu, mais le parasite est retrouvé dans les entérocytes des malades.

### Clinique :

Diarrhée à incubation courte (2 jours). Pas de sang, de glaires ou de pus. Cette diarrhée pas ou peu fébrile peut durer de quelques semaines à plusieurs mois et prend des proportions cataclysmiques chez le sidéen avec perte importante de poids.

### Prélèvement et traitement du prélèvement :



*Oocyste non sporulé*

Pratiquer un prélèvement de selles, puis un examen direct. La méthode de concentration de Ritchie est utilisable mais peut détruire certains oocystes. On peut aussi réaliser des étalements de selles que l'on colorera par la technique de Ziehl.

#### Examen direct :

On observe des oocystes sphériques de 8 à 10 µm de diamètre, avec une structure centrale très réfringente (ressemblant à une mûre) et une double membrane. Leur nombre est généralement important dans les selles.

### Après coloration de Ziehl :



*Oocyste sporulé*

On observe des oocystes colorés en rouge et contenant des inclusions sombres. La prise du colorant est différente pour chaque oocyste : certains peuvent être transparents.

#### Sporulation :

Cette technique, facile d'utilisation, permet la confirmation du diagnostic :

Mettre une noix de selles en suspension dans une solution de bichromate de potassium à 2.5 % et laisser à température du laboratoire pendant au moins une semaine. Centrifuger et observer le culot : on observe, à l'intérieur de certains oocystes, deux sporocystes en banane à extrémité arrondie, contenant chacun deux sporozoïtes en croissant (plus difficile à voir).

### Traitement :

Cotrimoxazole (800 mg/j + 160 mg/j) pendant 7 jours avec un contrôle parasitologique en fin de traitement. En cas d'examen positif, nouvelle cure de 7 jours.

## DIAGNOSTIC D'UNE SARCOCYSTOSE



*Sarcocystis hominis* est une coccidie responsable de diarrhées. Cependant, cette pathologie ne s'emballe pas chez l'immunodéprimé, comme le font d'autres coccidies comme *Cryptosporidium*.

*Une paire de sporocystes de S. hominis*

#### Cycle :

l'homme s'infecte en mangeant de la viande insuffisamment cuite contenant des kystes. L'homme est l'hôte définitif.

#### Prélèvement et traitement du prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de selles suivi d'un examen direct avant et



après concentration par la technique de Ritchie.

**Examen direct :**

On observe des sporocystes de taille 9 X 14 µm, en petit nombre, isolés ou en paire. Ils sont très réfringents, de forme ovoïde, à paroi lisse. Ils contiennent 4 sporozoïtes en banane et un corps résiduel en petites granules à une extrémité.

Le diagnostic différentiel sera fait avec les kystes de Giardia.

*Détail d'un sporocyste, contenant des sporozoïtes en banane*

**Traitement :**

- Sarcocystis en petit nombre : abstention thérapeutique
- Sarcocystis en grand nombre : association sulfadiazine + pyriméthamine

**GIARDIASE ou LAMBLIASE**

**Épidémiologie :** Flagellose duodéno-jéjunale due à *Giardia intestinalis*

- Contamination : ingestion d'eau et d'aliments souillés par les kystes
- Cycle simple aboutissant à des formes végétatives caractéristiques.
  - Répartition cosmopolite, touchant souvent les enfants et les immunodéprimés.
  - Prophylaxie : maladie liée au péril fécal. Il faut donc désinfecter l'eau de boisson ainsi que celle de lavage des aliments. Construction de latrines.



**Signes cliniques :**

Chez l'adulte, selles pâteuses "mastic clair", douleurs abdominales diffuses, ballonnements. La giardiose peut être asymptomatique.

*Kyste de Giardia, coloration au Lugol*

Chez l'enfant, les selles peuvent être semi-liquides, couleur chamois. Une malabsorption peut être

observée pouvant entraîner à la longue un retard staturo-pondéral.

**Prélèvement et traitement du prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de selles.

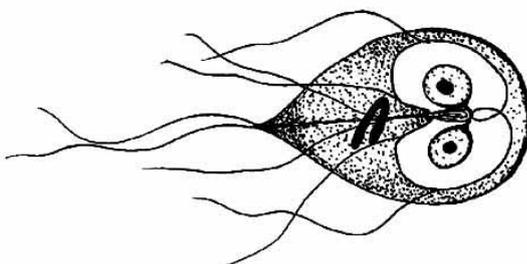
Examen direct sur les selles fraîches puis concentration par la méthode de Ritchie.

On peut colorer les formes végétatives au MGG ou au Giemsa rapide. Les kystes sont généralement colorés au Lugol

*Formes végétatives, coloration de Giemsa*

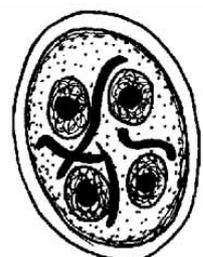
**Examen direct :**

Recherche surtout de formes végétatives caractéristiques : vites immobilisées, peu réfringentes, à corps piriforme de 10 µm de longueur ( GR = 7 µm). Kystes de 12 X 8 µm réfringents, ovalaires contenant 4 noyaux et



les flagelles disposés en faisceau dessinant un "S" barrant le kyste en diagonale.

*Forme végétative et kyste de Giardia*  
Diagnostic différentiel avec les kystes de *Sarcocystis hominis*.



### Pathologies habituellement associées :

Toutes les pathologies liées au péril fécal : amibiase, ascarirose, trichocéphalose, téniaose ...

### Traitement et contrôle d'efficacité :

Traitement par le métronidazole ou autres nitroimidazolés, contrôle d'efficacité peu nécessaire, sauf chez l'immunodéprimé.

## DIAGNOSTIC D'UNE LEISHMANIOSE

La forme cutanéomuqueuse américaine (espundia) est cliniquement très caractéristique (délabrements faciaux surinfectés) et ne nécessite pas d'examen complémentaires biologiques autres que pour les surinfections. Le traitement est à débiter de toute urgence, c'est le même que pour les formes viscérales.

### LEISHMANIOSE CUTANÉE

**Épidémiologie :** Protozoose cutanée due à *Leishmania tropica*, encore appelée bouton d'Orient.

Même cycle que pour les leishmanioses viscérales à la différence près que ce sont les cellules réticulo-endothéliales de la peau qui sont ici visées.

#### Clinique :

*Nodules cutanés multiples*

Commence par l'apparition d'une papule rouge indolore sur la peau au niveau des zones découvertes. La papule s'indure puis s'ulcère en se recouvrant d'une croûte.

Il existe 3 types de lésions :



- Sèche ou nodulaire : ulcération croûteuse mal délimitée, évolution lente vers la guérison spontanée.
- Humide ou creusante : ulcération plus profonde, plus grande, d'évolution plus rapide et généralement très surinfectée.
- Lupoïde : nodule rouge-jaunâtre ferme et lisse. En le pressant un peu, on voit apparaître des grains lupoïques jaunâtres.

Évolution sans traitement : la lésion guérit d'elle-même laissant une grosse cicatrice, pouvant être évitée par le traitement (surtout pour le visage).

Le but du diagnostic biologique est de faire la différence avec un furoncle, un impétigo, un ulcère vasculaire ou lépreux.

#### Zone d'endémie :

- Forme sèche : Moyen-Orient, Inde, Méditerranée
- Forme humide : Afrique tropicale, Asie centrale.
- Formes cutanéomuqueuses : de l'Argentine au Mexique.

#### Prélèvement :

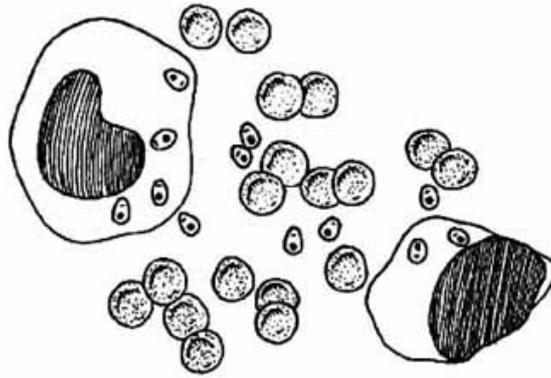
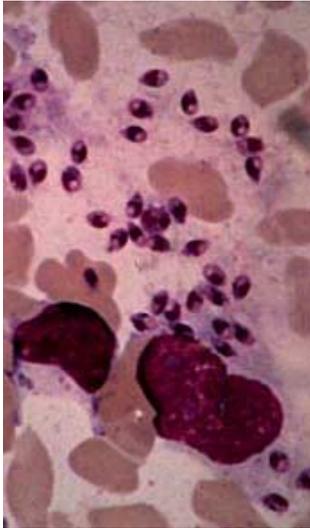
- Formes sèches et humides : enlever la croûte puis racler la face interne de l'ulcération sur sa périphérie jusqu'à ce que sourde un sérosité légèrement teintée de sang. Le suc dermique obtenu est étalé sur une lame en un frottis mince.
  - Forme lupoïde : ponction du nodule à la seringue et étalement sur lame.



#### Traitement du prélèvement :

*Forme amastigote*

Coloration des lames au Giemsa, observation objectif 100 à immersion pendant au moins dix minutes par lames. Les formes amastigotes sont surtout intracellulaires.



#### Examen direct :

*Trypanosomes sur un frottis*

Les lésions récentes contiennent plus de leishmanies que les lésions anciennes. Dans les lésions surinfectées, on ne les retrouve pas : il faut tout d'abord éliminer l'infection puis refaire le prélèvement.

#### Pathologies habituellement associées :

Pathologies liées aux

piqûres d'insectes, variables suivant le lieu : paludisme, filarioses, trypanosomiasés ...

#### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

- Traitement local : 1 à 5 ml d'antimoniote de méglumine injecté en périphérie du bouton, 2 fois par semaine et pendant 15 jours.
- Antibiothérapie locale conseillée en cas de surinfection.

### DIAGNOSTIC D'UNE LEISHMANIOSE VISCÉRALE

**Épidémiologie** : aussi appelée Kala-azar

Réticulo-endothéliose parasitaire liée au développement d'un protozoaire flagellé dans le système réticulo-histiocytaire : *Leishmania donovani*.

**Cycle** : piqûre de l'homme ou du chien par un phlébotome : injection de la forme promastigote flagellée, se développant chez l'homme sous forme amastigote, qui contaminera un phlébotome lors d'une nouvelle piqûre.

**Clinique** : diagnostic clinique difficile.

De plus, le parasite peut rester quiescent pendant de longues années avant de se réveiller, lors de problèmes ou d'immunodépression surajoutée. Il s'agit donc d'une maladie opportuniste, retrouvée fréquemment en complication d'un SIDA.

On note les signes généraux d'une hémopathie : pâleur, fièvre, adénopathies, hépato-splénomégalie. La fièvre due à une leishmaniose est très variable d'un jour à l'autre et même dans la même journée.

Sans traitement, évolution constamment mortelle.

#### Zone d'endémie :

- Afrique : Maghreb, grands lacs, Afrique centrale
- Asie : Inde, Chine, péninsule du Viêt-nam
- Amérique : Brésil, Amérique centrale.

#### Prélèvement :

Pratiquer un myélogramme. Comme pour la ponction lombaire, c'est un acte strictement médical réservé à un personnel averti. Beaucoup plus rarement, on pratiquera un prélèvement de ganglion que l'on étalera.

#### Traitement du prélèvement :

Le prélèvement doit ramener des grains médullaires. Procéder ensuite à un étalement fin, un séchage soigneux et à une coloration de Giemsa.

Observer ensuite les lames pendant au moins dix minutes à l'objectif 100 et à l'immersion. L'observateur doit être bien exercé pour reconnaître à coup sûr les formes amastigotes, très petites 2-4  $\mu$ m. On peut se reporter aux photographies des formes amastigotes de leishmaniose cutanée.

Après traitement, les leishmanies disparaissent de la moelle après 3 semaines, la normalisation de la numération prend 6-8 semaines.

#### Examens complémentaires :

- NFS : anémie normochrome arégénérative normocytaire sévère, devenant microcytaire, thrombopénie, leucopénie.
- VS très augmentée : 100 mm à la première heure.

- Protéines totales généralement augmentées, sauf chez le sujet dénutri.

#### **Pathologies habituellement associées :**

Pathologies liées aux piqûres d'insectes, variables suivant le lieu : paludisme, filarioses, trypanosomiasés ...

#### **Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

Le traitement est primordial, il est conseillé de l'instaurer en milieu surveillé (hôpital, dispensaire).

- Utilisation de dérivés de l'antimoine : l'antimoniote de méglumine existe en générique : 60 mg/Kg/j en IM/IV lente pendant 15-20 jours, demi-dose les trois premiers jours. A recommencer un mois après. Surveiller les signes d'intolérance au traitement : toux, myalgies vomissements, atteinte cardiaque ou hépatique. Arrêter le traitement et passer à la pentamidine.
- Utilisation de pentamidine : 3-4 mg/Kg/j IM/IV lente un jour sur deux pendant 20 jours maximum (pas plus de 10 injections)

### **DIAGNOSTIC D'UNE MICROSPORIDIOSE**

Les principaux représentants des microsporidies sont *Enterocytozoon bienewisi* et *Septata intestinalis*. Ces protozoaires ont pris une importance considérable dans l'étiologie des diarrhées des personnes VIH positives (15-30 % des diarrhées).

Le cycle se déroule dans les entérocytes et aboutit à la libération de spores dans les selles. *Septata intestinalis* est retrouvé dans les macrophages, ce qui explique la possibilité de formes disséminées.

#### **Clinique :**

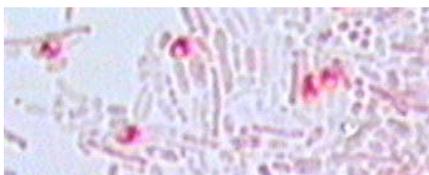
Diarrhée récurrente chez l'immunodéprimé.

#### **Prélèvement, traitement du prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de selles et réaliser une suspension de cette selle en en diluant un volume dans 2 volumes de formol à 10 %. Étaler ensuite, en plusieurs fois s'il le faut, le maximum de cette suspension (au moins 5 ml) sur une lame et laisser sécher. Pratiquer ensuite une coloration de Weber.

On peut aussi colorer les microsporidies par la coloration de Giemsa, mais elle est plutôt réservée aux biopsies de muqueuse intestinale.

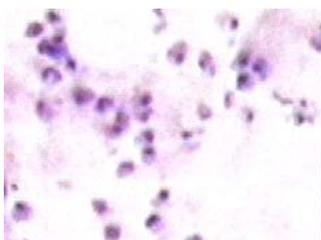
#### **Examen direct :**



*Coloration de Weber*

Observation de la lame colorée à l'objectif 100 pendant au moins 10 minutes. On recherche des spores ovoïdes, de 0.9 à 1.5 µm de diamètre, colorées en rouge-rosé, très réfringentes, avec un renforcement de la coloration en bande centrale ou diagonale et une

vacuole.



*Coloration de Giemsa*

Techniquement, on détecte les spores par leur réfringence puis on regarde la taille, la forme, le renforcement de leur coloration et la présence d'une vacuole. Diagnostic différentiel avec des bactéries prenant le colorant, qui sont de forme régulière, non réfringentes, de coloration uniforme et moins intenses que les microsporidies.

#### **Traitement :**

Il n'existe pas pour l'heure de traitement réellement efficace. On utilise le métronidazole (1.5 g/j) ou l'albendazole (0.8 g/j).

## DIAGNOSTIC D'UN ACCÈS PALUSTRE

**Epidémiologie** : maladie parasitaire due à un hématozoaire du genre *Plasmodium* et transmise par la piqûre d'anophèle femelle.

Le diagnostic du paludisme est une urgence (une des rares urgences en parasitologie). Cycle simple passant par la piqûre d'un insecte contaminé lors d'un précédent repas. Il existe 4 espèces, seul *Plasmodium falciparum* peut être mortel.

Les problèmes de l'endémie sont surtout dus à la résistance croissante du *P. falciparum* aux médicaments (chloroquine). La base de l'éradication de la maladie est surtout prophylactique (moustiquaires, égout fermés, assainissement des agglomérations urbaines).

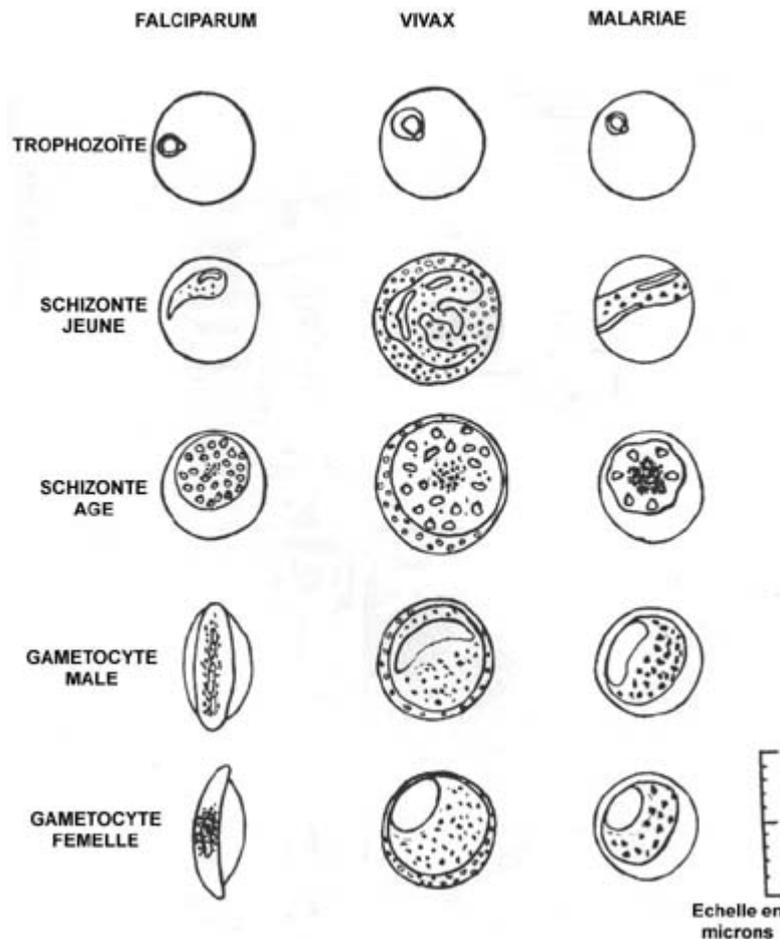
Les personnes les plus touchées sont les enfants entre 4 mois et 4 ans ainsi que les femmes enceintes.

**Clinique** : incubation minimale de 7 jours entre la piqûre et la première crise.

- Crise simple fièvre, céphalées, vomissements, diarrhée. Triade frissons - chaleur - sueur (jamais pour la primo-invasion).
- Accès pernicieux complication majeure du paludisme due uniquement à *P. falciparum* : Association des symptômes de la crise avec des troubles neurologiques : convulsions, coma. On observe fréquemment un ictère avec anémie. Nécessite un traitement d'urgence

**Zone d'endémie** : les zones tropicales ou sub-tropicales du globe, variable suivant les 4 espèces :

- *P. falciparum* : Afrique, Amérique, Asie
- *P. malariae* : Afrique, Amérique, Asie
- *P. ovale* : uniquement africain : Afrique de l'ouest et golfe de Guinée, rarement en Afrique de l'est.
- *P. vivax* : Afrique, Amérique, Asie



On peut se référer à la carte et à une autre carte donnant les zones chloroquinorésistantes.

### Prélèvement et traitement du prélèvement :

- Pratiquer un prélèvement de sang capillaire pendant le pic fébrile.
- Réaliser ensuite un frottis et une goutte épaisse.
- Colorer les lames au MGG ou au Giemsa.

### Examen direct :

Le but est simple : répondre par oui ou non aux 2 questions :

1. Trouve-t-on des plasmodium sur le frottis ?
2. Si oui, est-ce du *P. falciparum* ?

Les lames sont observées à l'objectif 100 et à l'immersion pendant au moins 20 minutes (recommandations OMS). Il est conseillé de surtout regarder le milieu du frottis, où il y a un bon compromis entre le nombre des hématies et leur forme et leur aspect. Différenciation des **stades du protozoaire** : il existe trois stades :

trophozoïte, schizonte et gamétocytes. Tous ne sont pas visibles dans le sang périphérique. Se reporter au tableau comparatif.

On calcule la **parasitémie** du patient par rapport à la numération N des leucocytes en  $\mu\text{l}$  (100 fois la concentration en G/l :  $10 \text{ G/l} = 10\,000 \text{ éléments}/\mu\text{l}$ ).

On compte en parallèle le nombre d'hématies parasitées et un nombre de leucocytes donnés sur le frottis, par exemple 250. On trouve H hématies parasitées.

On a : **nombre de parasites par  $\mu\text{l} = (H/250) \times N$**

Lorsque l'on a pas pratiqué de numération, on prendra arbitrairement  $N = 8000$  :

On obtiendra : **nombre de parasites par  $\mu\text{l} = 32 H$**  (toujours pour 250 GB)

**Examens complémentaires :**

- Anémie, thrombopénie, hyperleucocytose sans hyperéosinophilie (en l'absence d'infection intercurrente).
- Hypoglycémie fréquente, augmentation des transaminases.

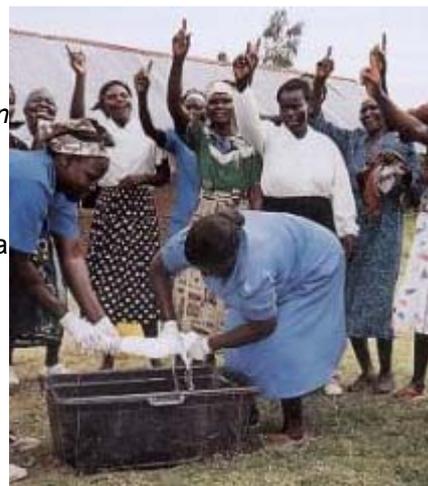
**Pathologies habituellement associées :**

Pathologies liées aux piqûres d'insectes, variables suivant le lieu : filarioses, trypanosomiases ...

*Imprégnation de moustiquaires dans un village africain*

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

- Accès palustre simple, sans vomissements :  
Pas de résistance de *P. falciparum* à la chloroquine : on utilise la chloroquine à la dose de  $8 \text{ mg/Kg/j}$  pendant 5 jours.  
Présence de résistances à *P. falciparum* : quinine per os  $25 \text{ mg/Kg/j}$  pendant 5 jours sans dépasser  $1.5 \text{ g/j}$  chez l'adulte.
- En cas de vomissement, on administrera la quinine en IM à la même dose. Il est à noter que le pic plasmatique est atteint moins vite de cette manière que per os.
- Accès palustre grave (accès pernicieux) :  
Quinine en perfusion IV lente de 4 heures, 3 fois par jour. On place  $500 \text{ mg}$  de quinine dans  $250 \text{ ml}$  au minimum de sérum glucosé isotonique.
- Prophylaxie : chloroquine  $100 \text{ mg/j}$ , 6 jours sur 7, ou encore  $300 \text{ mg/semaine}$  en une fois (méthode anglo-saxonne), moustiquaires imprégnées.



## TRICHOMONASE INTESTINALE

Les trichomonases vaginales sont traitées dans les infection vaginales.

**Épidémiologie :** flagellose du colon à *Trichomonas intestinalis*. Contamination : péril fécal, voir amibiase

**Signes cliniques :**

Beaucoup de personnes dont les selles contiennent le parasite ne présentent aucun symptôme. Si il prolifère, on peut observer une entérocolite chronique évoluant par poussées et marquée par une diarrhée abondante contenant du mucus voire du sang.

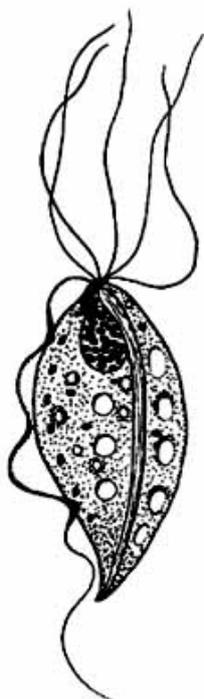
**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de selles

*Forme végétative de Trichomonas intestinalis*

**Examen direct :**

Examen direct des selles, puis d'un étalement après coloration au MGG  
On observe uniquement des formes végétatives:



- Sans coloration : Corps piriforme de 10 µm possédant une membrane ondulante tout le long du corps et un flagelle postérieur. Grande mobilité par mouvements saccadés.
- Après MGG : forme variable, du fuseau à un rond. On distingue la membrane ondulante, un gros noyau antérieur, 3-5 flagelles antérieurs libres et un flagelle postérieur. Axostyle antéro-postérieur réfringent.

#### Traitement habituel / évolution / contrôles d'efficacité :

On utilise le métronidazole 1 g/j pendant 5 jours.

### DIAGNOSTIC D'UNE TRYPANOSOMIASE HUMAINE AFRICAINE



**Épidémiologie** : maladie due à la piqûre d'une glossine. Aussi appelée maladie du sommeil (à tort). Même genre de cycle que pour les leishmanioses.

*Glossine* : vecteur de la trypanosomiase.

**Clinique** : incubation de quelques jours à plusieurs années.

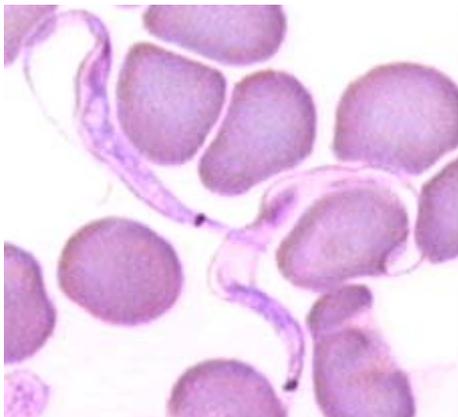
- Invasion phase lymphatico-sanguine : dissémination du parasite à tout le système réticulo-histiocytaire : adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie.
- Évolution : phase méningo-encéphalitique (polarisation cérébrale) : troubles sensitifs et moteurs, troubles du comportement, inversion des nyctémères. Leuco-encéphalite démyélinisante.
- Maladie constamment mortelle en l'absence de traitement. La forme d'Afrique de l'Ouest a une évolution plus chronique que la forme est-africaine, beaucoup plus aiguë, mortelle en 3 à 6 mois.

**Zone d'endémie** : strictement africaine

- *T. gambiense* : forêts d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale ( zone formant un triangle : Sénégal - Soudan -- Angola -- Sénégal)
- *T. rhodesiense* : savanes d'Afrique de l'Est (Éthiopie, Botswana et Mozambique)

#### Prélèvement, traitement du prélèvement :

Recherche simple dans le sang :



- Prélèvement de sang capillaire (utiliser la première goutte, la plus riche en trypanosomes) puis examen entre lame et lamelle à l'objectif 40. Il faut veiller à mettre la bonne quantité de sang : si on en met trop, les hématies occupent toute la place, si on en met pas assez, le poids de la lamelle empêche les trypanosomes de bouger.
- On observe des organismes fusiformes polymorphes 20 X 3 µm se déplaçant rapidement en faisant bouger les hématies.
- En cas d'examen négatif, il faut recommencer 3 jours de suite.
- On peut aussi réaliser un frottis mince que l'on colore ensuite au MGG ou au Giemsa (photographie :

*trypanosomes sur un frottis coloré au Giemsa*) On obtient une meilleure morphologie (cytoplasme bleuté, noyau central et kinétoplasme rouges), mais on a moins de chance de retrouver le trypanosome si la parasitémie est faible.

- On peut encore réaliser une goutte épaisse pour concentrer le sang, cependant, il y a beaucoup d'artefacts et la morphologie des trypanosomes est altérée.

Recherche dans le sang en utilisant la méthode de concentration de Wood :

Recherche dans le suc de prélèvement d'un **ganglion**

Pendant la phase nerveuse de la maladie, on peut rechercher les trypanosomes dans le **LCR** après centrifugation et examen du culot entre lame et lamelle, une coloration au MGG est aussi possible après étalement mince du culot. En effet, les trypanosomes sont souvent absents du sang ou des ganglions à ce stade de la maladie.

La recherche dans la moelle osseuse n'est pas facile, le prélèvement est de plus difficile.

On peut aussi utiliser des tests d'agglutination sur plaque (Tresttryp CATT par exemple). L'antisérum se conserve 1 semaine à 45 degrés C sous forme lyophilisée, mais seulement 4 heures reconstitué à cette température. Cette méthode est beaucoup plus adaptée aux enquêtes de masse qu'au diagnostic ponctuel.

#### **Examens complémentaires :**

- Anémie modérée (vraisemblablement auto-immune), hyperleucocytose avec plasmocytose et monocytose sanguines, présence de cellules de Mott (plasmocytes bourrés de vésicules). Diminution de la plasmocytose à la phase nerveuse.
- VS très augmentée : 100-150 mm à la première heure.
- Cytologie du LCR : hyperleucocytose (rarement supérieure à 500 éléments/mm<sup>3</sup>) à lymphocytes puis à plasmocytes. En phase terminale, on voit aussi apparaître des PNN et PNE ainsi que des hématies.

#### **Pathologies habituellement associées :**

Pathologies liées aux piqûres d'insectes, variables suivant le lieu : paludisme, filarioses, trypanosomiasés ...

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :** tous les médicaments sont disponibles en génériques.

- Stade lymphatico-sanguine : utilisation de pentamidine : 4 mg/Kg/j : 7 injections en 14 jours (un jour sur deux), maximum de 10 injections. Aucun effet lors de la phase nerveuse.
- Phase méningo-encéphalitique : utilisation de melarsoprol IV : 3.6 mg/Kg/j sans dépasser 200 mg/j, par cures de 3 injections espacées de 48 heures, en association à des corticoïdes (1 mg/Kg/j de prednisone). Injection au patient à jeûn et couché, préalablement déparasité (helminthiasés) si besoin. Attention aux effets indésirables du melarsoprol.
- En cas de résistance, on peut utiliser de la difluorométhylornithine IV à 400 mg/Kg/j en 4 fois par jour, pendant 15 jours.

## **HELMINTHES**

- |                 |                             |
|-----------------|-----------------------------|
| • Anguillulose  | • Distomatoses              |
| • Ankylostomose | • Filarioses                |
| • Ascaridiose   | • Oxyuriose                 |
| • Bilharzioses  | • Téniasés, trichocéphalose |
| • Cysticercose  |                             |

### **DIAGNOSTIC D'UNE ANGUILLULOSE**

**Épidémiologie :** L'agent pathogène est un Nématelminthe : *Strongyloides stercoralis*

**Contamination :** Pieds nus dans de l'eau douce stagnante contenant des larves strongyloïdes infestantes. Maladie liée au péril fécal.

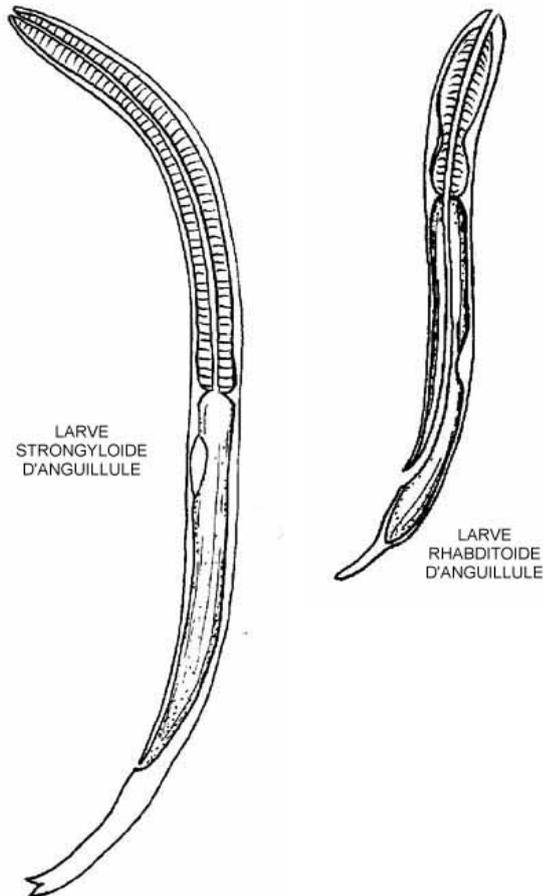
#### **Cycle :**

Pénétration transcutanée des larves, généralement au niveau des pieds, passage dans le circuit lymphatique, le poumon puis le tube digestif après régurgitation. Les larves évoluent en adulte dans le grêle. pondent des œufs qui éclosent dans l'intestin, libérant une larve rhabditoïde.

Cette larve est soit éliminée dans les selles et évolue en strongyloïde infestante, soit évolue en strongyloïde infestante dans l'intestin, pénètre dans la muqueuse, sort de l'intestin au niveau de l'anus puis passe sous la peau (larva currens) et rejoint le système lymphatique : c'est le cycle interne de l'anguillulose qui peut, surtout en cas immunodépression (SIDA), s'emballer pour donner un tableau d'anguillulose maligne conduisant à la mort.

#### **Clinique :**

- Invasion : Latence clinique totale, urticaire, asthénie, sensation de faiblesse, Anorexie, fièvre, syndrome de Loeffler.
- État : évolution sur un mode chronique progressif : douleur abdominale, vomissements, ictère, diarrhée, constipation, duodénite.
- Évolution : favorable globalement avec ou sans traitement, sauf chez l'immunodéprimé (emballement du cycle endogène). Malabsorption par lésions pariétales du grêle proximal en cas d'invasion massive.



#### Zone d'endémie :

- Constamment : Amérique centrale, Amérique du sud, Afrique centrale, Afrique occidentale, Afrique orientale, Afrique du Nord, Vallée du Nil, Zimbabwe, Botswana Nord, Madagascar, Asie du sud-est
- Plus rarement : Espagne; Portugal; Italie, sud Balkans, Iran.

#### Prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de selles  
Observation sans traitement et après concentration selon la technique de Bayermann ou encore par coproculture. On observe des larves rhabditoïdes,

#### Examens complémentaires :

Éosinophilie ( 500/mm<sup>3</sup>)

#### Pathologies habituellement associées :

Polyparasitoses intestinales  
Ankylostomiase, necatorose, bilharzioses.

#### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

Tiabendazole : 25mg/j pendant 2 jours ou Albendazole : 2 cp / j pendant 3 jours. Les autres anthelminthiques sont peu actifs.

Traitement à refaire un mois après la première cure. Un contrôle parasitaire des selles sera effectué un mois après la deuxième cure.

## DIAGNOSTIC D'UNE ANKYLOSTOMOSE

### Épidémiologie :

Nématodose intestinale due à *Ankylostoma duodenale* ou à *Necator americanus*.

Maladie due à la pénétration transcutanée de larves, facteur favorisant professionnel (briquetiers, cimentiers, mineurs, travail dans les puits...) et par la marche pieds nus.

### Cycle :

Pénétration transcutanée d'une larve strongyloïde qui gagne le poumon et remonte les bronches en passant les alvéoles. Elle est déglutie au carrefour aéro-digestif puis s'installe dans le duodénum où elles deviennent adultes

Les premiers œufs sont pondus 6 semaines après la contamination. Ils sont éliminés dans les selles, s'embryonnent et libèrent une larve rhabditoïde qui donne une larve strongyloïde infestante.

### Clinique :

- Phase d'invasion : pénétration et migration des larves  
Érythème, prurit, toux, troubles digestifs, épigastralgie, douleurs abdominales. Vomissements .

Diarrhée abondante. Dysphagie. Faim douloureuse. Régurgitations. Météorisme, ballonnement.  
Constipation, duodénite,.

- Phase d'état :  
Syndrome anémique pouvant être grave, surtout chez l'enfant.
- Évolution :

Favorable sous traitement, bénigne à grave sans traitement.



Œuf d'ankylostome à 8 blastomères

**Zone d'endémie :**

Constamment :

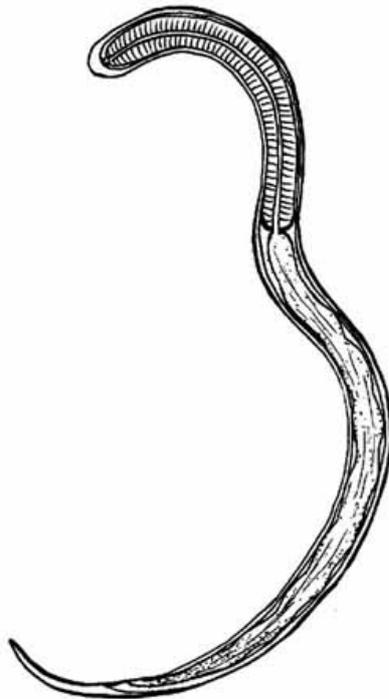
Amérique centrale, Amérique du sud, Afrique centrale, Afrique occidentale, Afrique orientale, Afrique du nord, vallée du Nil, Zimbabwe, Botswana nord, Madagascar, Asie du sud-est

Plus rarement :

Espagne; Portugal; Italie, sud Balkans, Iran



A gauche : oeuf d'ankylostome et larve rhabditoïde, à droite larve strongyloïde, en dessous, Necator americanus



**Prélèvement et traitement du prélèvement :**

pratiquer un prélèvement de selles.

on recherche des œufs dans les selles :

Examen direct de selles directement et après concentration par la technique de Kato, permettant de numérer les œufs dans les selles et apprécier l'intensité du parasitisme. La technique de Ritchie est aussi utilisable. On peut aussi, pour de faibles parasitismes, ou pour faire un diagnostic différentiel avec une anguillulose, pratiquer une coproculture parasitaire.

**Examens complémentaires :**

numération et formule sanguine

Hyperleucocytose ( 10g/l) éosinophilie très élevée commençant à partir de la deuxième semaine après la contamination.(2g/l).

Dosage de l'hémoglobine pour dépister une éventuelle anémie et la traiter rapidement, surtout chez l'enfant.

**Pathologies habituellement associées :**

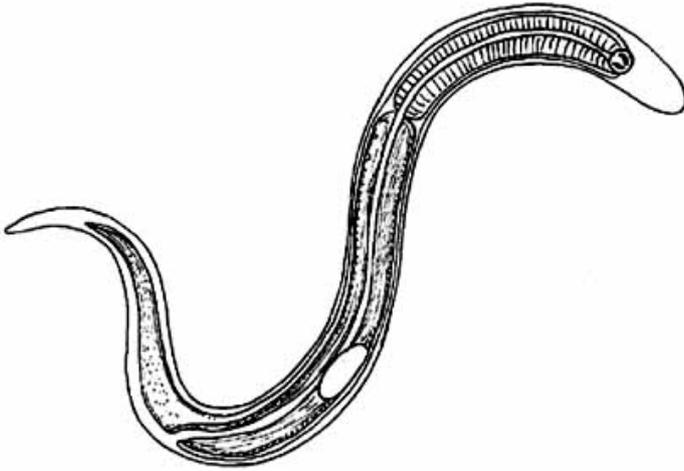
Anguillulose, bilharziose (même mode de contamination)

paludisme (même zone d'endémie)

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

On utilise le mebendazole ou le flubendazole : 200 mg/j en une prise pendant deux jours. Ne pas oublier de traiter l'anémie éventuellement associée.

Parasitologie des selles de contrôle un mois après la fin du traitement.



## DIAGNOSTIC D'UNE ASCARIDIOSE

**Épidémiologie :** Némathelminthiase due à *Ascaris lumbricoides*

Ingestion de végétaux porteurs d'œufs ou d'œufs se trouvant sur les mains sales. Éclosion de l'œuf, migration larvaire tissulaire de 3 semaines passant par les poumons, remontant les bronches, déglutition au carrefour aéro-digestif et migration vers l'intestin, maturation et ponte d'œufs éliminés dans les selles. Maladie grave chez l'enfant et le nourrisson.

**Clinique :**

- Invasion: migration larvaire, phase inconstante. Début après un intervalle de 3 à 8 jours après contamination, fièvre, toux, syndrome de Loeffler, dyspnées.
- État : Troubles digestifs, nausées, alternance de constipation et de diarrhées,
- Évolution : Complications rares : occlusion intestinale, perforation, septicémie secondaire.

**Zone d'endémie :**

Cosmopolite, dans toutes les régions du globe, spécialement tropicales, lorsque l'hygiène est faible.

**Prélèvement :** Pratiquer un prélèvement de selles.

**Examen direct :**

- Examen macroscopique des selles : mise en évidence des parasites adultes
- Examen microscopique des selles pour mettre en évidence les œufs caractéristiques mamelonnés 70 X 40 µm. Une concentration par la méthode de Kato est possible, la méthode de Ritchie détruit les œufs et ne peut donc pas être utilisée.

**Photos :**



Œuf non fécondé

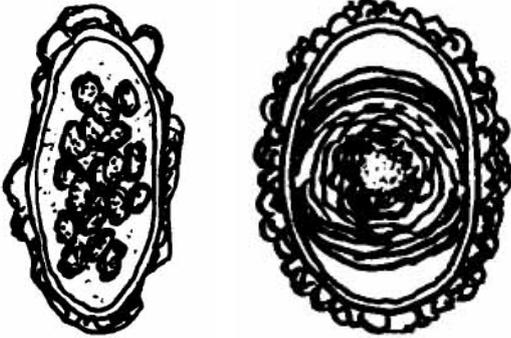


Œuf fécondé



Œuf décortiqué

### Schémas :



œuf non fécondé

œuf fécondé

### Examens complémentaires :

Éosinophilie ( 0.5 G/l), Hyperleucocytose modérée (10-20 G/l).

### Pathologies habituellement associées :

Autres parasitoses dues au manque d'hygiène et liées au péril fécal : amibiase, giardiase, téniaise, trichocéphalose ...

### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

Métabendazole, Flubendazole 200 mg/j en une prise, trois jours de suite. Contrôle d'efficacité 2 mois après le traitement.

## DIAGNOSTIC D'UNE BILHARZIOSE

### Épidémiologie :

La bilharziose est une pathologie des "pieds nus", lorsqu'une personne marche pieds nus dans de l'eau douce stagnante et que les larves pénètrent :

Pénétration transcutanée de furcocercaires, forme infestante, qui gagnent par voie sanguine et lymphatique le poumon puis le cœur gauche puis le foie. Les vers deviennent adultes dans le système porte ou ils s'accouplent puis gagnent les systèmes veineux peri-vésicaux pour pondre.

### **SCHISTOSOMA HAEMATOBIMUM**

Les œufs traversent la muqueuse vésicale et sont éliminés dans l'urine. Cependant, de nombreux œufs restent prisonniers de la muqueuse et provoquent un granulome.

Les œufs continuent leur maturation en libérant une larve qui va évoluer dans un petit mollusque pour arriver après plusieurs stade à la libération de furcocercaires aux heures chaudes de la journée.

### Clinique :

- Invasion : prurit, réaction allergique, petit œdème au lieu de pénétration, toux, nausées.
- État : douleur abdominale hypogastre, Hématurie haute, hématurie urétéro-rénale, Hématurie vésicale, pollakiurie, miction fréquente
- Évolution : mauvaise en l'absence de traitement : bilharziose vésicale, bilharziose uro-génitale à *Schistosoma haematobium*, bilharziose génitale de la femme, lithiase urinaire, coliques néphrétiques, obstruction urétérale aiguë, pyélonéphrite aiguë

**Zone d'endémie :** On peut se référer à la carte.

Égypte sud, Éthiopie, Afrique centrale, Afrique occidentale, Afrique orientale, Mauritanie, Maroc sud, Libye sud, Botswana nord, Namibie nord, Zimbabwe , Somalie, Soudan, Madagascar ouest, Maurice , Inde.

### **Prélèvement et traitement du prélèvement:**

Pratiquer un prélèvement d'urines, de préférence en recueillant les urines de 24 heures

Examen direct du culot de centrifugation urinaire après avoir laissé décanter les urines pendant au moins une heure dans le cas des urines de 24 heures.

## POUR TOUTES LES BILHARZIOSES :

Observation au microscope à l'objectif 10, les œufs étant suffisamment gros.(200 µm)

Il est possible de colorer des biopsies vésicales, mais le geste médical est sérieux et les risques hémorragiques importants. On préférera donc éviter

On peut réaliser un étalement fin des selles sur lame, et procéder à une coloration de Ziehl, les œufs de *S. haematobium* ne sont pas acido-alcool résistants, contrairement à *S. mansoni* et *S. intercalatum*.

Pour *S. japonicum* et *mekongi*, plus petits (80 µm), examen direct au microscope à l'objectif 10 puis 25.

### **Pathologies habituellement associées :**

Ankylostomose, anguillulose.

### **Examens complémentaires :**

Éosinophilie (0.5 G/l) pendant la phase d'invasion des larves (moins élevée pour *S. haematobium* que pour les autres bilharzioses). Hyperleucocytose 10 à 20 G/l.

### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

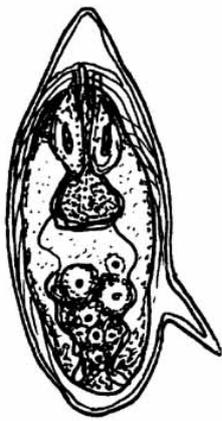
Le traitement habituel des Bilharzioses repose sur l'utilisation de praziquantel à la dose de 40 mg/Kg/j en une ou deux prises dans la même journée. On peut aussi utiliser le métrifonate à la dose de 10 mg/Kg/j en deux prises espacées de 15 jours.

On veillera à surveiller la diminution de l'éosinophilie et la négativation de la recherche parasitologique dans les deux mois qui suivent. Dans le cas contraire, une nouvelle prise de médicaments est recommandée.

### Examen direct :



*S. haematobium*



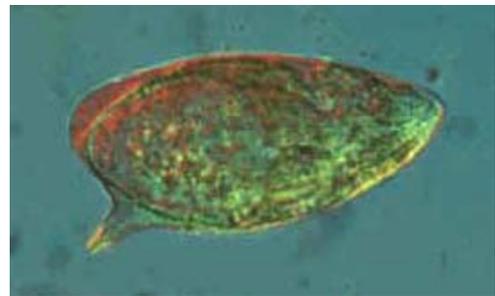
*S. mansoni*



*S. japonicum*  
*S. mekongi*



A gauche, *S. mekongi*, en dessous, *S. mansoni*



### SCHISTOSOMA MANSONI

Les œufs traversent la muqueuse et sont éliminés dans les selles. Cependant, de nombreux œufs restent prisonniers de la muqueuse et provoquent un granulome.

Les œufs continuent leur maturation en libérant une larve qui va évoluer dans un petit mollusque pour arriver après plusieurs stade à la libération de furcocercaires aux heures chaudes de la journée.

### Clinique :

- Invasion : prurit, réaction allergique, petit œdème au lieu de pénétration, toux, nausées.
- État : état général altéré, fièvre, hyperthermie, hépatomégalie, splénomégalie, douleur abdominale, ténésmes, diarrhée, syndrome dysentérique, polypes recto-sigmoïdiens, prolapsus rectal
- Évolution : évolution globale par crises de recto-sigmoïdites, pronostic grave sans traitement, favorable avec traitement.

### Zone d'endémie :

Afrique orientale, Afrique occidentale, Afrique du sud, Égypte, Colombie, Venezuela, Guyana, Guyane française, Surinam, Équateur, Brésil, Bolivie, Pérou, Paraguay, petites Antilles

### Prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de selles.

Prélever de préférence les glaires en surface de la selle ou prélever en différents points de la selle.

### Examens complémentaires :

Éosinophilie (1-2 G/l) pendant la phase d'invasion des larves (plus élevée que pour *S. haematobium*).

Hyperleucocytose 10 à 20 G/l.

### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

Le traitement habituel de l'infection à *S. mansoni* repose sur l'utilisation d'oxamniquine (disponible en générique), à la dose de 25 mg/Kg en une seule prise lors de la phase d'invasion, 60 mg/Kg/j étalés sur deux jours lors de la phase d'état.

On veillera à surveiller la diminution de l'éosinophilie et la négativation de la recherche parasitologique dans les deux mois qui suivent. Dans le cas contraire, une nouvelle prise de médicaments est recommandée.

### SCHISTOSOMA INTERCALATUM

Les œufs traversent la muqueuse et sont éliminés dans les selles. Cependant, de nombreux œufs restent prisonniers de la muqueuse et provoquent un granulome.

Les œufs continuent leur maturation en libérant une larve qui va évoluer dans un petit mollusque pour arriver après plusieurs stade à la libération de furcocercaires aux heures chaudes de la journée.

**Clinique :**

- Invasion : prurit, réaction allergique, petit œdème au lieu de pénétration, toux, nausées.
- État : évolution sur un mode chronique progressif, ténésme rectal, diarrhée, douleurs abdominales de la fosse iliaque gauche, fonctions hépatiques perturbées
- Évolution : mauvais pronostic sans traitement, surtout en cas d'infestation massive.

**Zone d'endémie :**

Gabon, Congo, Zaïre, Cameroun, Centrafrique, Angola

**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de selles.

Prélever de préférence les glaires en surface de la selle ou prélever en différents points de la selle.

**Examens complémentaires :**

Éosinophilie (1-2 G/l) pendant la phase d'invasion des larves (plus élevée que pour *S. haematobium*).

Hyperleucocytose 10 à 20 G/l.

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

Le traitement habituel de l'infection à *S. intercalatum* repose sur l'utilisation de praziquantel à la dose de 40 mg/Kg en une ou deux prises dans la même journée.

On veillera à surveiller la diminution de l'éosinophilie et la négativation de la recherche parasitologique dans les deux mois qui suivent. Dans le cas contraire, une nouvelle prise de médicaments est recommandée.

**SCHISTOSOMA JAPONICUM / MEKONGI**

Pénétration transcutanée de furcocercaires, forme infestante, qui gagnent par voie sanguine et lymphatique le poumon puis le cœur gauche puis le foie. Les vers deviennent adultes dans le système porte où ils s'accouplent puis gagnent les systèmes veineux peri-intestinaux (plus haut que pour *S. mansoni*) pour pondre.

Les œufs traversent la muqueuse et sont éliminés dans les selles. Cependant, de nombreux œufs restent prisonniers de la muqueuse et provoquent un granulome.

Les œufs continuent leur maturation en libérant une larve qui va évoluer dans un petit mollusque pour arriver après plusieurs stade à la libération de furcocercaires aux heures chaudes de la journée.

Dans le cas de cette bilharziose, la petite taille des œufs (80 µm), leur permet de passer dans la circulation générale, réalisant une véritable septicémie bilharzienne, avec atteinte hépatique, cardio-pulmonaire voire cérébrale.

**Clinique :**

- Invasion : prurit, réaction allergique, petit œdème au lieu de pénétration, toux, nausées.
- État : amaigrissement, fièvre irrégulière, anémie, diarrhée, syndrome dysentérique, hypertension pulmonaire, arthralgie, rectites, anorectites.
- Évolution : pronostic grave sans traitement : insuffisance hépatocellulaire, cirrhoses, cœur pulmonaire chronique, hypertension portale

**Zone d'endémie :**

Chine populaire, Taiwan, Japon, Philippines, Corée, Cambodge, Laos, Thaïlande

**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de selles.

Prélever de préférence les glaires en surface de la selle ou prélever en différents points de la selle.

**Examens complémentaires :**

Éosinophilie (1-2 G/l) pendant la phase d'invasion des larves (plus élevée que pour *S. haematobium*).

Hyperleucocytose 10 à 20 G/l.

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

Le traitement habituel de l'infection à *S. japonicum* repose sur l'utilisation de praziquantel en prise unique de 60 mg/Kg en 2-3 prises dans la même journée.

On veillera à surveiller la diminution de l'éosinophilie et la négativation de la recherche parasitologique dans les deux mois qui suivent. Dans le cas contraire, une nouvelle prise de médicaments est recommandée.

**DIAGNOSTIC D'UNE CYSTICERCOSE**

**Épidémiologie :**

La cysticercose est une affection provoquée par l'ingestion d'œufs de *Taenia solium* par l'homme, se substituant au porc comme hôte intermédiaire. Il s'agit donc d'une maladie des mains sales ou de l'engrais humain.

Il peut s'agir d'une autoinfestation due à la remontée d'anneaux dans l'estomac libérant les embryons. Ils gagnent par voie sanguine les tissus sous-cutanés le système nerveux central ou tout autre organe et se transforment en larves cysticerques (1.5 X 0.8 cm).

### Clinique :

Migration puis fixation des larves :

Évolution : variable suivant les localisations des larves :

- Neurocysticercose : épilepsie, hypertension intracrânienne.
- Cysticercose oculaire : baisse de l'acuité visuelle, strabismes.
- Cysticercose musculaire et sous cutanée : myalgies, douleurs musculaires spontanées et diffuses, nodule cutanéomuqueux, myocardiopathie.

### Zone d'endémie :

Amérique centrale, Amérique du sud, Afrique du sud, Afrique occidentale, Afrique orientale, Madagascar, Île de la Réunion, Europe centrale, Inde.

### Prélèvement :

Prélèvements des nodules sous-cutanés ou musculaires à l'aide d'un petit scalpel.

### Examen direct / schémas :

On observe une cavité liquidienne dans laquelle se trouve un protoscolex invaginé porteur d'une double couronne de crochets caractéristiques.

### Examens complémentaires :

Hyperéosinophilie variable, pouvant être retrouvée dans le LCR en cas de cysticercose centrale.

### Pathologies habituellement associées :

Téniasse à *Tenia solium*.

### Traitement habituel / contrôles d'efficacité :

Le traitement est surtout chirurgical, les larves se calcifiant rapidement.

## DIAGNOSTIC D'UNE DISTOMATOSE

### Distomatose hépatique :

Helminthiase cosmopolite due à l'ingestion de végétaux semi-aquatiques parasités, responsable d'une hépatite toxi-infectieuse à la phase aiguë et se compliquant d'angiocholites répétitives. On observe tout d'abord une phase d'invasion dominée par le syndrome allergique, puis phase de parasitisme biliaire intéressant les canaux biliaires mais aussi la vésicule.

Orientation :

- Hyperleucocytose, hyperéosinophilie massive lors de la phase d'invasion à partir du 15<sup>ème</sup> jour. Des chiffres absolus de 10 G/l sont atteints à cette période.
- À la phase chronique, l'éosinophilie diminue, tout en restant supérieure au seuil de 0.5 G/l.



Confirmation :

Oeufs de *Fasciola hepatica*, opercule fermé (à gauche) et ouvert (à droite). Les oeufs font environ 170 X 100  $\mu$ m.

Pratiquer un prélèvement de selles et rechercher la présence d'œufs de *Fasciola hepatica*. Cet examen ne se positive que dans 35 p. 100 des cas et seulement au delà du 3<sup>e</sup> mois. Il faut donc renouveler les prélèvements ou, si possible, procéder à un tubage duodénal. Dans tous les cas, on peut utiliser la



technique de Ritchie pour concentrer les selles.

Des œufs de *Fasciola gigantica* et de *Dicrocoelium dendriticum* peuvent également être retrouvés : la présence d'œufs de *Dicrocoelium* est exceptionnellement due à une distomatose hépatique humaine ; ils sont plus souvent observés en simple transit.

Traitement :

- Traitement chirurgical pour enlever les vers si l'obstacle sur les voies biliaires est trop grand.
- Traitement médicamenteux : 2 déhydro émétine en sous cutané, 1 mg/Kg/j pendant 10 jours, Dans le cas de *Fasciola gigantica*, on utilise le praziquantel 20 mg/Kg/j.

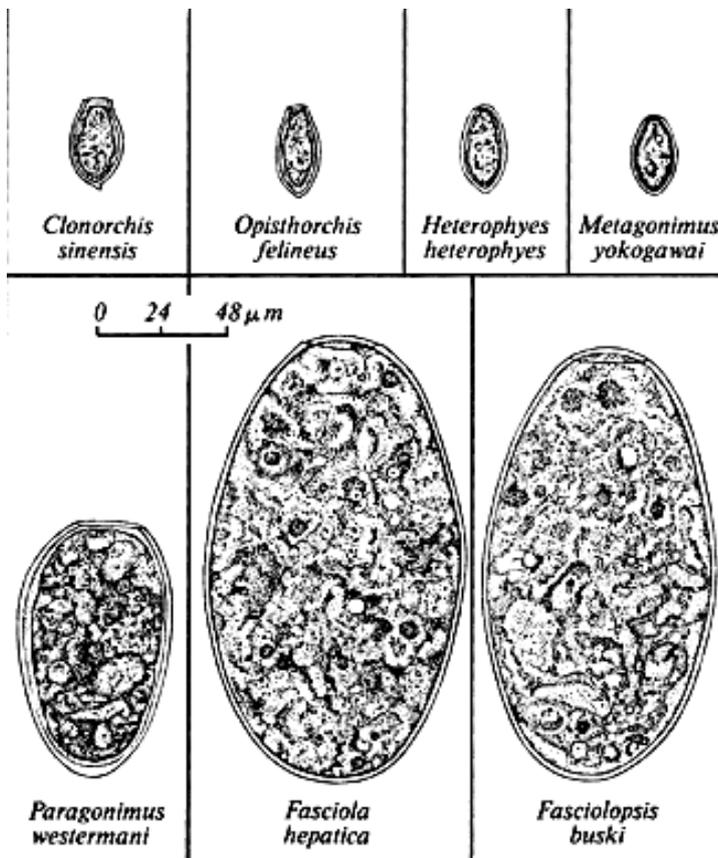


Tableau comparatif de différents oeufs de distomatoses.

**Distomatoses biliaires :**

Ensemble de parasitoses biliaires, fréquentes en Extrême-Orient, contractées par ingestion de poisson cru parasité. Souvent asymptomatique, la maladie peut se révéler par des complications hépatobiliaires.

Orientation :

- Hyperéosinophilie en général modérée.



Confirmation :  
Oeufs d'*Opisthorchis felineus* (à gauche) et de *Clonorchis sinensis* (à droite).



Les oeufs font environ 30 X 15 µm.

Pratiquer un prélèvement de selles, réaliser un examen direct avant et après la technique de concentration des selles selon Ritchie et rechercher la présence d'œufs de :

- *Clonorchis sinensis*
- *Opisthorchis viverrini*
- *Opisthorchis felineus*.

Traitement :

- Praziquantel 20 mg/Kg/j

**Distomatoses intestinales :**

Ensemble de parasitoses intestinales, souvent asymptomatiques, fréquentes en Extrême-Orient, contractées par ingestion de poisson cru parasité. La distomatose à *Heterophyes heterophyes* est grave car les oeufs peuvent migrer dans le courant sanguin et créer des embolies ou des accidents cérébraux, même une mort subite.

Orientation :

- Hyperéosinophilie en général modérée.

Confirmation :

On peut observer certaines fois un véritable syndrome dysentérique, avec 5-6 selles liquides par jour.

Pratiquer un prélèvement de selles, réaliser un examen direct avant et après la technique de concentration des selles selon Ritchie et rechercher la présence d'œufs de :

- *Fasciolopsis buski*
- *Heterophyes heterophyes*
- *Metagonimus yokogawai*
- *Gastrodiscoides hominis*
- *Watsonius watsoni*



*Fasciolopsis buski*. Les oeufs font environ 160 X 90  $\mu\text{m}$ .



*Heterophyes heterophyes*. Les oeufs font environ 30 X 20  $\mu\text{m}$ .



*Metagonimus yokogawai*. Les oeufs font environ 30 X 15  $\mu\text{m}$ .

Traitement :

- Niclosamide, 4 comprimés par jour en 2 prises pendant 2 jours.
- On peut aussi utiliser le bithionol.

### Distomatose pulmonaire :

Helminthiase tropicale due à l'ingestion de crustacés d'eau douce, responsable d'une symptomatologie pleuropulmonaire.

Orientation :

- Hyperéosinophilie
- Si l'on dispose d'une radiographie pulmonaire, on observe des opacités nodulaires et des calcifications.



Confirmation :

Pratiquer un prélèvement de crachats, réaliser un examen direct et rechercher la présence d'œufs de *Paragonimus westermani*

Oeuf de *Paragonimus westermani*. Les oeufs font environ 90 X 60  $\mu\text{m}$ .

Traitement :

- Bithionol per os, 30 mg/Kg/j, un jour sur deux pendant mois.

## DIAGNOSTIC D'UNE FILARIOSE LYMPHATIQUE

**Épidémiologie** : Ces filarioses sont dues à trois espèces : *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* et *Brugia timori*. 400 millions de personnes sont touchées par les filarioses dans le monde.

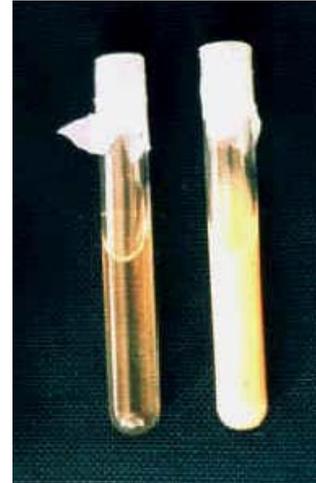
**Cycle** : les adultes sont présents dans les ganglions et canaux lymphatiques des membres inférieurs et du bassin chez l'homme. Ils libèrent des microfilaries à périodicité nocturne. Ces microfilaries sont absorbées lors d'une piqûre par un moustique (4 genres incriminés dont anophèle). Des larves infestantes se

développent dans les muscles de l'insecte puis migrent vers les trompes. Pénétration active chez l'homme lors d'une piqûre.

**Clinique :** incubation 5-15 mois

- Phase aiguë lymphangite superficielle centrifuge (ganglion vers périphérie) à la différence des lymphangites bactériennes centripètes. Caractère récidivant. Pas de porte d'entrée visible. Les lymphangites peuvent devenir profondes avec fièvre.
- Évolution / phase chronique éléphantiasis (rare), chylurie (fistule lympho-urinaire), hydrocèle vaginal, poumon éosinophile filarien.

*Urine normale (à gauche) et chylurie (à droite)*



**Zone d'endémie :**

- Afrique : large zone d'une ligne nord Sénégal - Somalie jusqu'à une ligne Angola - Madagascar nord. Quelques foyers en Égypte.
- Asie : large zone de l'ouest de l'Inde jusqu'aux îles du Pacifique en passant par Viêt-nam, Indonésie et Malaisie.
- Amérique : foyers à la Dominique, Guyanes, Trinidad et Brésil nord.

**Prélèvement et traitement du prélèvement :**

Prélèvement de sang capillaire, la nuit (périodicité nocturne), en cas d'alitement, la périodicité s'inverse. On pratique ensuite :

- Un examen direct du sang entre lame et lamelle pour dépistage de microfilaires (objectif 10).
- Si l'examen est positif, on réalise un frottis mince ou une goutte épaisse avec coloration MGG pour identification des microfilaires.
- Si l'examen est négatif, on réalise un prélèvement de sang veineux puis une concentration selon Ho Thi Sang pour augmenter le rendement du dépistage

Prélèvement d'urine en cas de chylurie. Dans ce cas, les urines ont tendance à légèrement coaguler (ce qui n'est pas le cas lors de lipurie ou de pyurie). Centrifugation douce puis observation du culot. On observe aussi des microfilaires dans les urines lors d'un traitement à la diethylcarbamazine (signe de bonne efficacité du traitement).



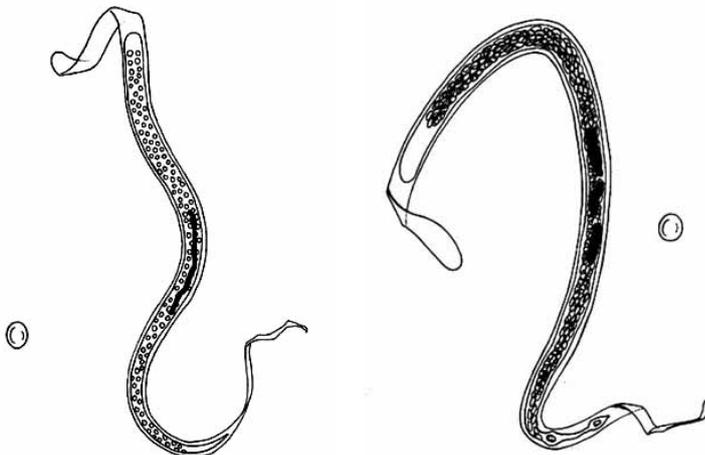
**Examen direct :**

On peut se référer au tableau d'identification des microfilaires ou au chapitre traitant des autres filarioses (plus bas dans la page)

*W. bancrofti, Giemsa, faible grossissement*

**Examens complémentaires :**

En cas d'échec des examens directs, et après avoir éliminé la présence de Loase ou d'onchocercose, on peut recommencer l'examen direct après avoir réalisé le test de Mazzotti.



**Pathologies habituellement associées :**  
Paludisme (même zone géographique).

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

En l'absence de Loase ou d'onchocercose, avec une microfilariémie faible ou presque indécélable et sans poussée aiguë lymphangitique : diethylcarbamazine. Chez l'enfant : 6 mg/Kg/j, chez l'adulte 4 comprimés par jour.

*Wuchereria bancrofti (gauche) et Brugia malayi (droite)*

Les doses administrées seront progressives en commençant par le dixième de la dose pour arriver à bonne posologie en une semaine.

Une cure initiale de 21 jours est nécessaire, éventuellement en association avec des corticoïdes et des antihistaminiques pendant les dix premiers jours.



Plusieurs cures secondaires de 10 jours (avec intervalle de 15 jours) seront nécessaires par la suite.

*B. malayi*, Giemsa, fort grossissement

En cas de poussée aiguë :

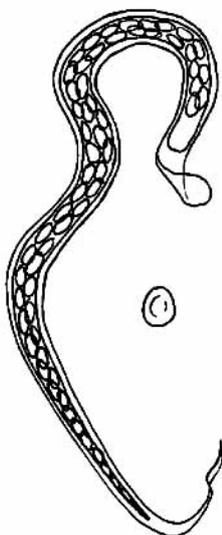
Traiter tout d'abord la poussée (antalgiques, antipyrétiques, corticoïdes, antihistaminiques, éventuellement antibiotiques si surinfection).

Traiter ensuite la filariose de la même manière que précédemment. De plus en plus, ou en cas de Loase ou d'onchocercose associée, on traite grâce à l'Ivermectine : 200 µg/Kg en une seule prise, en recommençant six mois plus tard.

### Identification des microfilaries :

|                        | Micro filaire | Taille en µm  | Gaine          | Espace Céphalique | Noyaux                | Corps de Manson   | Période | Extrémité postérieure                        |
|------------------------|---------------|---------------|----------------|-------------------|-----------------------|-------------------|---------|--|
| <i>B. malayi</i>       | Sang          | 250-300 / 6-8 | Oui            | Long              | Petits ovoïdes serrés | Visible, 3 masses | Nuit    | 2 renflements, 1 nyx terminal, 1 subterminal |
| <i>Loa Loa</i>         | Sang          | 300 / 8       | Oui peu coloré | Long              | Gros, ovoïdes         | Non coloré        | Jour    | Effilée nyx terminaux                        |
| <i>W. bancrofti</i>    | Sang          | 300 / 8       | Oui            | Court             | Petits, séparés       | Visible unique    | Nuit    | Effilée, nyx subterminaux                    |
| <i>M. perstans</i>     | Sang          | 200 / 5       | Non            | Très court        | Petits, serrés        | Non coloré        | Sans    | Doigt de gant, nyx terminaux                 |
| <i>M. ozzardi</i>      | Sang / derme  | 200 / 5       | Non            | Très court        | Petits, serrés        | Non coloré        | Sans    | Très effilée, nyx terminaux                  |
| <i>M. streptocerca</i> | Derme         | 200 / 5       | Non            | Très court        | Gros, espacés         | Non coloré        | Sans    | En crosse d'évêque, nyx terminaux            |
| <i>O. volvulus</i>     | derme         | 250-300 / 10  | Non            | Long              | Gros, serrés          | Non coloré        | Sans    | Nyx subterminaux                             |

### DIAGNOSTIC DES LOASES



#### Épidémiologie :

Maladie due à une filaire dermique donnant naissance à des microfilaries sanguines la filaire *Loa-Loa*.

Le cycle est le même que pour toutes les filaires : piqure infestante d'insecte (ici un taon : chrysops), maturation des femelles dans le tissu sous-cutané, libération de microfilaries absorbées par un taon lors d'une nouvelle piqure, maturation chez le taon.

#### Clinique :

Invasion phénomène allergiques : prurit généralisé, œdème de Calabar fugace et migrateur (membres supérieurs et paupières). Phénomènes de migration sous-cutanée des filaires adultes (1 cm / heure)

Évolution bénigne, attention cependant aux conséquences du traitement.

#### Zone d'endémie :

Nigeria, Cameroun, Gabon, Congo, Zaïre, Angola, Guinée équatoriale, Centrafrique.

#### Prélèvement et traitement du prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de sang périphérique, entre 12 et 14 heures : périodicité diurne. Traiter ensuite le prélèvement comme les filaires lymphatiques.

Il faut cependant numérer les microfilaries, ce que l'on ne fait pas dans le cas de filaires lymphatiques. Utiliser une cellule de comptage

**Examen direct :**

On peut se référer au tableau d'identification des microfilaries ou au chapitre traitant des filarioses lymphatiques

**Pathologies habituellement associées :**

Paludisme

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

Attention aux possibilités de choc anaphylactique ou d'encéphalite filarienne suite au traitement ! l'abstention thérapeutique peut être préférable. Le traitement repose sur l'utilisation de la DEC (diethylcarbamazine).

Après numération des microfilaries :

- < 50 / mm<sup>3</sup> : commencer le traitement
- >50 / mm<sup>3</sup> : on doit normalement commencer le traitement par une filariophérese (impossible en milieu tropical) ou attendre que le nombre de microfilaries diminue

Dans tous les cas, le traitement est commencé de manière très progressive : on commence par le dixième voire le vingtième de la dose journalière pour arriver à cette dose (6mg/Kg/j chez l'enfant, 400 mg/j chez l'adulte) au bout d'une semaine en augmentant doucement.

Le traitement dure 21 jours de posologie efficace. (soit en tout 28 jours de traitement).

**DIAGNOSTIC DES ONCHOCERCOSES****Épidémiologie :**

Nématodose spécifiquement humaine due à *Onchocercus volvulus*. 2<sup>ème</sup> cause de cécité dans le monde. Appelée aussi "cécité des rivières"

**Cycle :** les filaires vivent dans le tissu sous-cutané de manière libre ou en nodules (onchocercomes), durée de vie d'une dizaine d'années. Elles libèrent des microfilaries dermiques à tropisme pour l'œil (rétine) où leur lyse conditionne la pathogénie. Les microfilaries sont absorbées par une simule lors d'une piqûre, se transforment et contaminent un homme lors d'une nouvelle piqûre.

**Clinique :** incubation 15-18 mois (passage microfilaire --> adulte)

- Invasion : peau épaissie, dépigmentée, prurit (gale filarienne), onchocercomes : nodules sous-cutanés indolores.
- Évolution : kératite, rétinite, chorioretinite, cécité terminale.

**Zone d'endémie :**

Découle de la biologie du vecteur : près des rivières à gros débit ou des cascades.

Afrique de l'Ouest (Du Mali au Nigeria), Afrique centrale et de l'est (du Cameroun au Yémen et du Congo à l'Angola), Amérique centrale (Guatemala, Nicaragua, Venezuela, Équateur).

**Prélèvement :** il s'agit d'un prélèvement dermique :

Scarification : pratiquer 5 incisions dermiques rapprochées au niveau du deltoïde avec un vaccinostyle. Ne pas faire saigner. Pincer la peau de part et d'autre des incisions pour faire sourdre le suc dermique, le recueillir sur une lame dégraissée. Ensuite, recouvrir d'une lamelle pour examen direct ou faire sécher pour coloration au MGG.

Ponction de nodule onchocerquien : peut être positif alors que la recherche de microfilaries est négative. Mise en évidence des vers adultes (5-40 cm)

**Examen direct / schémas :** onchocerque

On peut se référer au tableau d'identification des microfilaries ou au chapitre traitant des filarioses lymphatiques

**Examens complémentaires :**

Hyperéosinophilie fréquente, surtout en début de traitement.

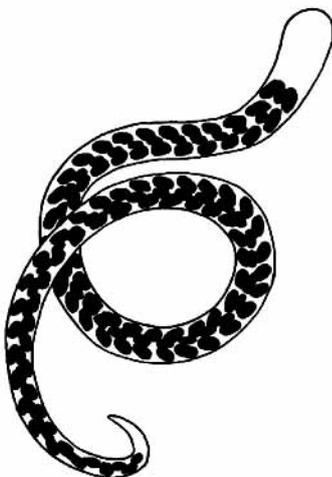
Exceptionnellement, on peut utiliser le test de Mazzotti (bien lire les contre-indications).

**Pathologies habituellement associées :**

Paludisme

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité :**

La DEC (diethylcarbamazine) ne doit plus être utilisée à cause de ses effets indésirables (lyse filarienne, choc anaphylactique, décès). On utilise donc l'ivermectine (CI femme enceinte) 50-200 mg/Kg en une prise



unique per os. Début de l'action au bout d'une semaine, valable 6 mois.  
Médicament distribué gratuitement par Merck Sharp Dohme à toute institution en faisant la demande.

## DIAGNOSTIC DES DRACUNCULOSES

**Épidémiologie** : pathologie due à la filaire de Médine, *Dracunculus medinensis*, encore appelée vers de Guinée, actuellement en régression.

**Cycle** : ingestion d'un cyclops (eau de boisson) contenant des larves infestantes par l'homme, maturation en adultes dans le tissu sous-cutané des membres inférieurs le plus souvent. Au bout d'une année, les femelles percent la peau au niveau des chevilles et libèrent des microfaires dans le milieu extérieur.

**Clinique** :

- Incubation pas de symptômes pendant l'année que dure l'incubation.
- Évolution phlyctène puis ulcération au niveau de la cheville, évoluant fréquemment vers la surinfection (phlegmon, gangrène, tétanos)
- Certaines localisations anormales des vers sont observées, surtout au niveau des articulations (arthrite septique) mais aussi au niveau des mains, du sein ou du péritoine.

**Zone d'endémie** :

Afrique de l'Ouest, Ouganda, Somalie, Arabie, Yémen, Moyen-Orient, Pakistan, Inde.

**Examens complémentaires** :

Le diagnostic de dracunculose est un diagnostic clinique ou encore radiologique, le laboratoire peut avoir un rôle dans le diagnostic de ses complications, principalement infectieuses.

En cas de doute, on peut imbiber un coton d'éther et en tamponner le pourtour de l'ulcération : apparition d'un liquide blanchâtre contenant des milliers de microfaires mobiles observables au microscope à l'objectif 10

**Pathologies habituellement associées** :

Bilharziose (même vecteur), tétanos.

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité** :

Le traitement consiste à enrouler le ver adulte autour d'un petit bâtonnet ou d'une allumette : 1 ou 2 tours par jours pour éviter de casser le ver, ce qui imposerait de l'enlever par des méthodes chirurgicales.

Le traitement des surinfection consiste tout d'abord en une prophylaxie antitétanique (gammaglobulines) et un rappel vaccinal. Les autres surinfections sont traitées de manière symptomatologiques.

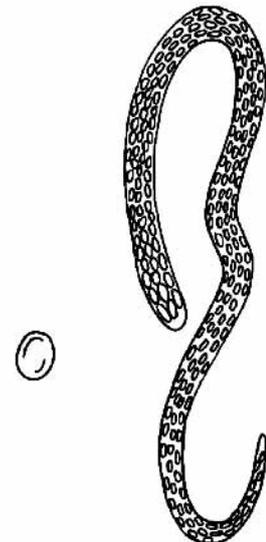
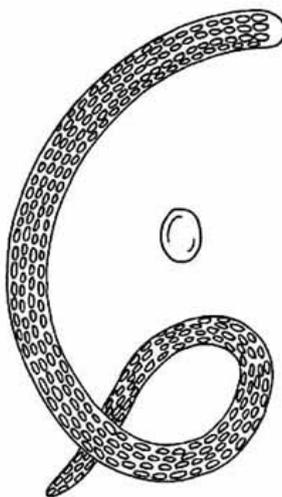
## DIAGNOSTIC DES MANZONELLOSES

La pathogénie des manzonelloses n'est pas établie, il peut être intéressant de les connaître pour le diagnostic différentiel avec les autres filaires.

- *M. perstans* : Afrique, Amérique du sud
- *M. ozzardi* : Amérique centrale et du sud
- *M. streptocerca* : Afrique centrale et de l'Ouest

*M. perstans* (à gauche) et *M. ozzardi* (à droite)

On peut se référer au tableau d'identification des microfaires ou au chapitre traitant des filarioses lymphatiques



## DIAGNOSTIC D'UNE OXYUROSE

Maladie parasitaire cosmopolite due à *Enterobius vermicularis*.

Les adultes sont localisés dans le cæcum et migrent vers la marge anale, surtout la nuit, pour pondre leurs oeufs, directement infestants (autoinfestation fréquente, surtout chez le jeune enfant). Chez la fillette, on peut aussi retrouver des oeufs sur la vulve. Le cycle dure 3 semaines.

### Clinique :

Troubles variés et bénins :

- Douleur abdominale, nausées, vomissements.
- Irritabilité, anxiété
- Prurit anal nocturne : signe presque la maladie.



### Diagnostic biologique :

Le prélèvement pour la recherche d'oxyures s'appelle le "**Scotch-test de Graham**" :

Manipuler avec des gants, les oeufs sont infestants.

On utilise un morceau de scotch de 6-7 cm que l'on place au bout d'un abaisse-langue, face collante à l'extérieur. On écarte les fesses de l'enfant et on place le scotch sur l'anus. Avec l'abaisse-langue, on plaque bien le scotch sur la marge anale.

A l'aide d'une pince, le scotch est retiré puis collé sur une lame, observée à l'objectif 10.

On peut aussi trouver les oeufs d'oxyure dans les selles, et même

parfois un ver adulte (1-3 mm de long) sur la marge anale.

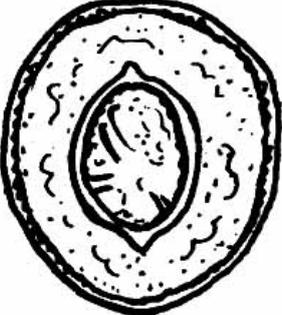
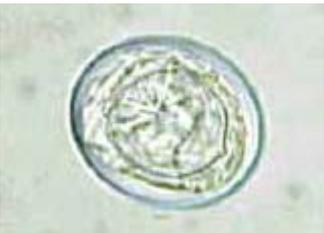
Traitement :

Flubendazole ou mebendazole, cure unique d'un comprimé, à renouveler 20 jours plus tard.

## DIAGNOSTIC D'UNE TÉNIASE ET D'UNE TRICHOCÉPHALOSE

Les téniaoses tissulaires à *Tænia solium* sont abordées dans le chapitre concernant la cysticercose.

### Schémas et photographies des oeufs :

|   |  |  |   |
|---|--|--|---|
|  <p><i>Tænia saginata</i><br/>50 X 40 µm</p> |  <p><i>Trichuris trichiura</i><br/>50 X 30 µm</p> |  <p><i>Hymenolepis diminuta</i><br/>70 X 60 µm</p> |  <p><i>Hymenolepis nana</i><br/>60 X 50 µm</p> |
|    |   |    |    |

Ce sont des helminthiases intestinales. On rencontre :

- Ténias : *Tænia saginata*, *Hymenolepis diminuta*, *Hymenolepis nana*
- Trichocéphale : *Trichuris trichiura*

**Clinique :**

- Troubles gastro-intestinaux : diarrhée, vomissements
- En cas de forte infestation à trichocéphale, on peut noter une discrète anémie
- Une faible hyperéosinophilie peut être observée lors d'une ténias.

**Diagnostic biologique :**

Pratiquer un prélèvement de selles et rechercher les oeufs avant et après une technique de concentration des selles. Pour les ténias, on peut utiliser la technique de concentration selon Ritchie, pour les oeufs de trichocéphale, on utilise la méthode de Kato (celle de Ritchie détruit les oeufs de trichocéphale).

On peut aussi voir des anneaux de ver adulte de *T. saginata* dans les selles ou la literie.

**Traitement :**

Niclosamide pour les ténias, flubendazole pour le trichocéphale. Lors de la découverte d'une ténias chez la femme enceinte, on peut utiliser 100 g de graines de courge fraîche pilée.

## DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE PATHOLOGIE HÉMATOLOGIQUE

- Particularités hématologiques en Afrique Noire
- Lignées sanguines et médullaires
- Anémies
- Anomalies morphologiques des hématies
- Anomalies de l'hémoglobine
- Anomalies enzymatiques des hématies
- Hémolyse et anémies hémolytiques
- Leucocytose et leucopénie
- Hémopathies malignes
- Pathologie de l'hémostase
- Thrombopénies, thrombocytoses et thrombopathies

### PARTICULARITES HEMATOLOGIQUES EN AFRIQUE NOIRE

Il existe certaines différences de "normales biologiques" entre le caucasien et l'africain noir, particulièrement dans le domaine de l'hématologie. On note aussi quelques différences dans le domaine des hémopathies malignes.

**Leucocytes :**

Fréquente leucopénie avec neutropénie : 25 % des adultes noirs africains ont un nombre de PNN < 2.7 G/l, c'est une neutropénie constitutionnelle. On considère à peu près que 10 % de la population possède une neutropénie franche.

Cette neutropénie est retrouvée chez le nouveau-né (moyenne de 12.6 G/l dans une cohorte de nouveaux-nés nigériens contre 20 G/l dans une cohorte de caucasiens américains).

Cette neutropénie peut entraîner une fausse lymphocytose relative, mais elle n'est pas absolue (lymphocytes < 4 G/l).

Forte éosinophilie liée aux parasitoses endémiques.

Forte prépondérance de lymphocytes de type B au détriment des lymphocytes de type T. Cela entraîne une diminution physiologique du rapport albumine / globulines due à une hypergammaglobulinémie et une hypoalbuminémie réactionnelle. Il est à noter que cette hypergammaglobulinémie est surtout le fait d'IgM.(IgG et A normales).

**Plaquettes :**

De même, légère thrombopénie physiologique chez l'africain noir (242 G/l en moyenne dans une cohorte européenne contre 196 G/l dans une cohorte ivoirienne).

30 % des africains noirs bien portant ont des plaquettes < 150 G/l, valeur considérée comme la base de la fourchette normale des plaquettes en Europe. Ce phénomène n'est pas associé à une splénomégalie.

### Hématies :

Chez des nouveaux-nés nigériens âgés de 1 jour, on note une diminution entre les valeurs moyennes de l'hématocrite (0.45 contre 0.61), de l'hémoglobine (155 g/l contre 190 g/l) et du nombre d'hématies (4 T/l contre 5.2 T/l). Cette différence existe chez l'adulte, mais est beaucoup moins nette. Cependant, les constantes érythrocytaires sont les mêmes pour les deux populations.

### Hémostase :

En plus de la thrombopénie, il existe souvent des thrombopathies conduisant à des hypoagrégations aux inducteurs standards (ADP, ristocétine, collagène).

Le TP est globalement allongé par rapport aux populations caucasiennes, la fibrinolyse est globalement plus intense. Ceci expliquant peut-être la faible incidence des pathologies thrombo-emboliques en Afrique noire.

Peu de déficits congénitaux en facteur de la coagulation (ou sous-diagnostic de ces pathologies faute de moyens adéquats). Par contre, forte incidence des CIVD en pathologie obstétricale et des purpura fulminans en général.

### Hémopathies malignes :

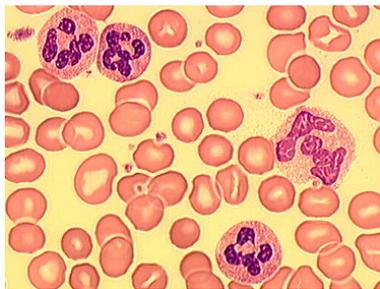
Prédominance des LAM chez l'enfant, contrairement aux populations caucasiennes dans lesquelles ce sont les LAL qui prédominent.

Le lymphome de Burkitt est l'hémopathie maligne la plus fréquente en Afrique (62 % des hémopathies)

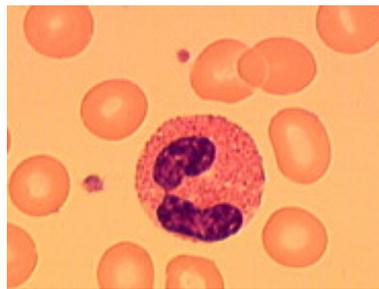
Les LLC se présentent comme une maladie surtout hépatosplénique et assez peu ganglionnaire comme en Europe ou en Amérique du Nord.

## LIGNÉES SANGUINES

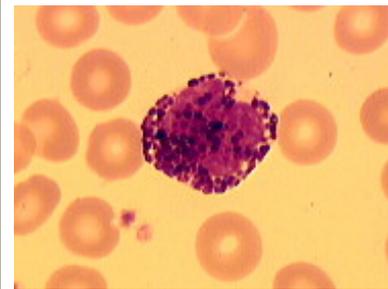
### Éléments matures du sang périphérique :



POLYNUCLÉAIRES  
NEUTROPHILES (50 - 70 %)



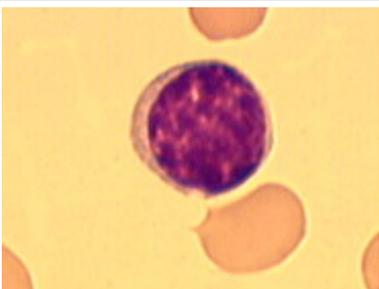
POLYNUCLÉAIRE  
ÉOSINOPHILE (1 - 3 %)



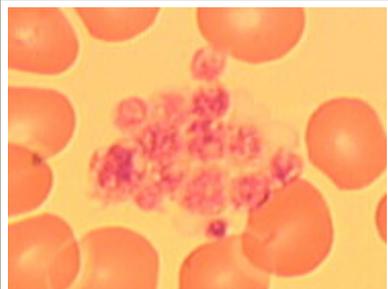
POLYNUCLÉAIRE BASOPHILE  
(0 - 1 %)



MONOCYTE (5-10 %)

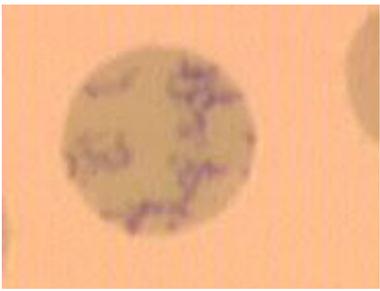
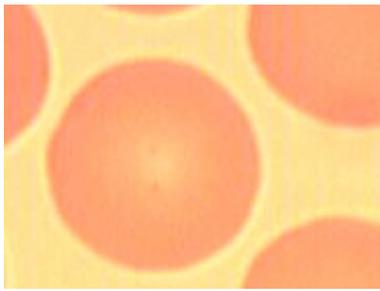
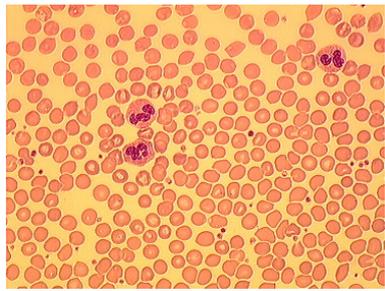


PETIT LYMPHOCYTE (20-40%)

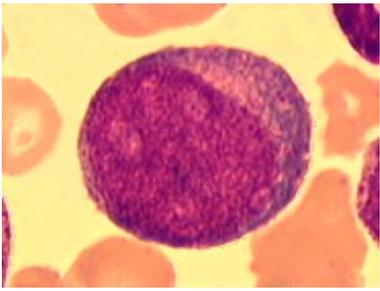
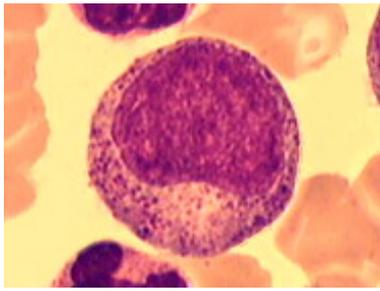
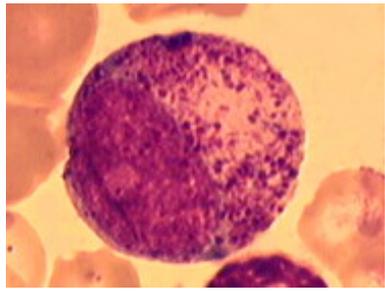
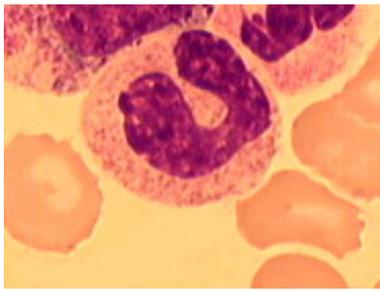
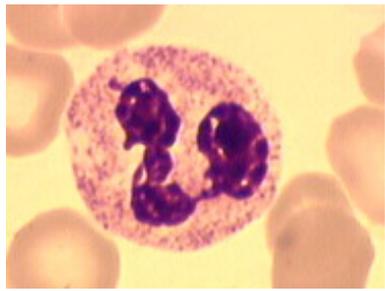


PLAQUETTES (ici en amas)

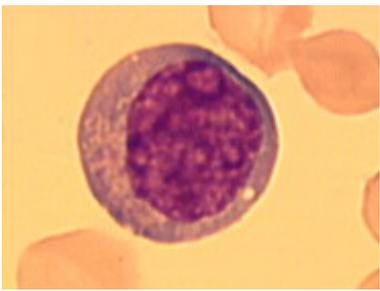
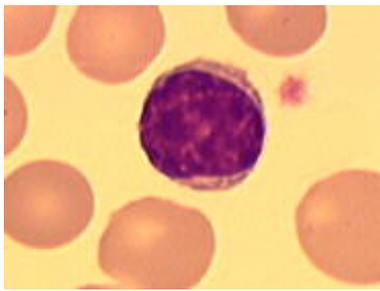
150- 400 G/l

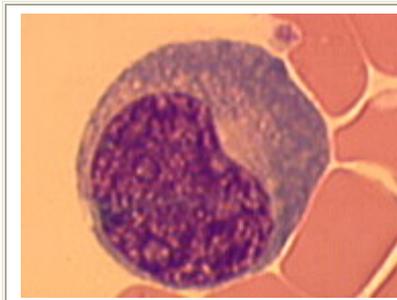
|   |   |  |
|---|---|--|
|  |  |  |
| RÉTICULOCYTE (<120 G/l)   | ERYTHROCYTE 4 - 5 T/l   | ASPECT DU FROTTIS  |

**Éléments de la lignée myéloïde : (à l'exception du polynucléaire)**

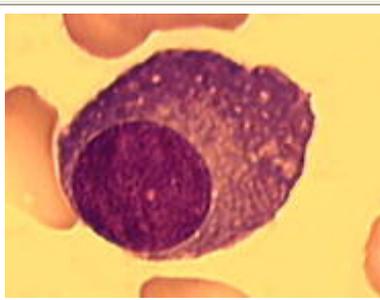
|   |  |   |
|---|--|---|
|  |   |   |
| MYÉLOBLASTE   | PROMYÉLOCYTE   | MYÉLOCYTE   |
| MÉTAMYÉLOCYTE   |  |  |
|   | BAND CELL (normal si < 10%)  | POLYNUCLÉAIRE   |

**Éléments de la lignée lymphoïde :**

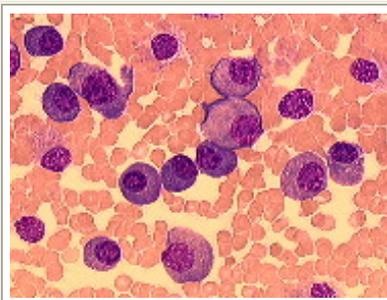
|   |   |  |
|---|---|--|
|  |  |  |
| LYMPHOBLASTE  | PETIT LYMPHOCYTE  | GRAND LYMPHOCYTE   |



IMMUNOBLASTE

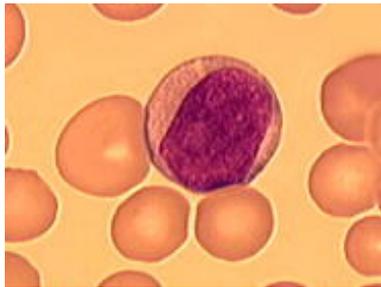


PLASMOBLASTE

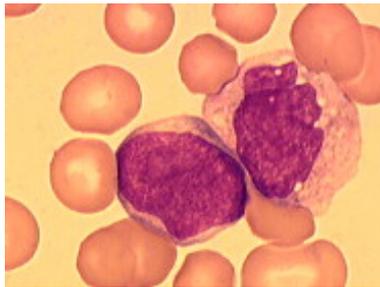


PLASMOCYTE

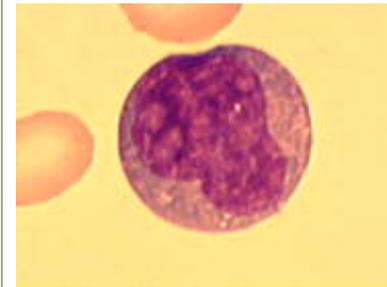
**Eléments de la lignée monocyttaire :**



PETIT MONOBLASTE



GRANDS MONOBLASTES



PROMONOCYTE



MONOCYTE BASOPHILE

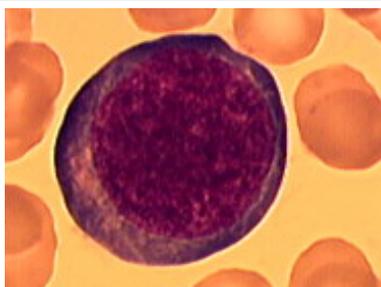


MONOCYTE



MONOCYTE VACUOLISE

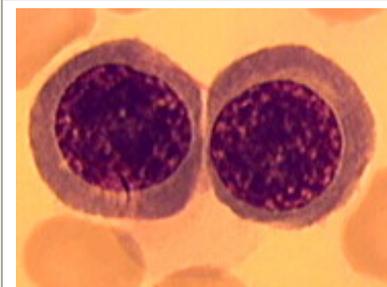
**Eléments de la lignée rouge :**



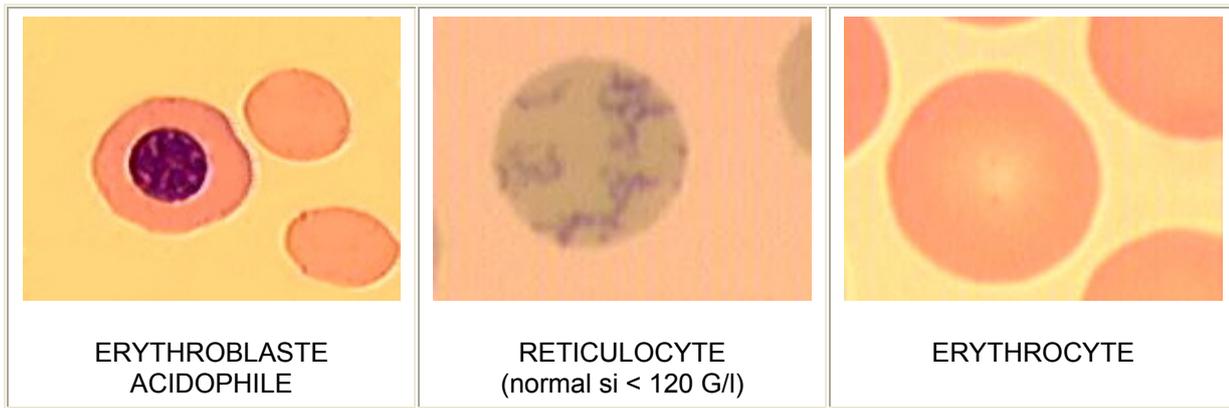
PROERYTHROBLASTE



ERYTHROBLASTE  
BASOPHILE



ERYTHROBLASTE  
POLYCHROMATOPHILE



ERYTHROBLASTE  
ACIDOPHILE

RETICULOCYTE  
(normal si < 120 G/l)

ERYTHROCYTE

## DIAGNOSTIC D'UNE ANÉMIE

Les anémies sont la cause d'hospitalisation de plus de 10 % des enfants à Abidjan et de 12 % de la mortalité totale...

80 % des anémies tropicales sont soit des anémies par carence, soit des hémoglobinopathies. Il ne faut pas oublier qu'une anémie a souvent plusieurs causes.

### Épidémiologie :

Une anémie est une pathologie répondant à une définition précise : diminution de la concentration en hémoglobine inférieure à 110 g/l chez la femme, 120 g/l chez l'homme, 110 g/l chez l'enfant jusqu'à la puberté.

Les étiologies, conséquences, aspects cytologiques et traitement sont différents, il est donc primordial de pouvoir les différencier.

### Clinique :

- Syndrome anémique :  
Asthénie, faiblesse, fatigabilité exagérée, tachycardie ( 100/mn), palpitations, dyspnées d'effort, polypnées, pâleur cutanéomuqueuse, fièvre, souffle systolique, souffle fonctionnel de débit, céphalées, sensation vertigineuse, sensation de bourdonnements d'oreille
- Évolution : grave sans traitement.

### Prélèvement et traitement du prélèvement

Prélèvement de sang veineux sur EDTA. Procéder tout d'abord au dosage de l'hémoglobine, à une numération des hématies, à une mesure de l'hématocrite et au calcul des constantes érythrocytaires. On réalise aussi un frottis sanguin que l'on observera afin de déterminer la morphologie des hématies.

### Examens complémentaires :

Numération des leucocytes, dosage du fer sérique, formule sanguine, numération des réticulocytes. Dans le cas d'anémies hémolytiques, on peut aussi procéder à un dosage de la bilirubine.

### Classification des anémies :

Les anémies sont classées en fonction des indices érythrocytaires. Cependant, une anémie multifactorielle (carence en fer ET en folates par exemple) pourra donner des constantes normales.

| Type d'anémie             | Cause   |
|---------------------------|---|
| Normocytaire, normochrome | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hémorragie aiguë</li> <li>• Certaines anémies hémolytiques : déficit en G6PD, drépanocytose, hémoglobines anormales, prise de médicaments.</li> <li>• Hémodilution</li> <li>• Envahissement médullaire, aplasie</li> </ul> |
| Microcytaire, normochrome | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rare : anémie associée à des phénomènes inflammatoires chroniques</li> </ul>   |

|                          |   |
|--------------------------|---|
| Microcytaire, hypochrome | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Déficit en fer</li> <li>• Thalassémies</li> <li>• Hémorragie chronique</li> </ul>                          |
| Macrocytaires            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carence en folates</li> <li>• Carence en vitamine B12</li> <li>• Bothriocéphale, auto-immun ...</li> </ul> |

#### Anémies parasitaires : tableau récapitulatif

| Type d'anémie           | Parasite incriminé                                |
|-------------------------|---|
| Hypochrome ferriprive   | Ankylostome, bilharziose urinaire, trichocéphale  |
| Hypochrome macrocytaire | Bothriocéphale                                    |
| Normochrome             | Leishmaniose viscérale, trypanosome, amibiase     |
| Hémolytique             | Paludisme   |
| Auto-immune             | Paludisme, leishmaniose, trypanosome, bilharziose |

#### Anémie par carence en fer :

- Éléments de clinique particuliers : trouble du caractère : irritabilité, émotivité, instabilité émotionnelle, stomatite, glossites, ongles cassants ou mous et fissurés, perlèche.
- Frottis sanguin: anisocytose, poïkilocytose, déformations érythrocytaires diverses, hématies en cible
- Biochimie et constantes : fer sérique bas (7-13 mmol/l), lymphocytes bas (< 0.8 G/l), microcytose (VGM < 75 fl), hypochromie (CCMH < 32 %), anémie peu régénérative (réticulocytes < 70 G/l).

#### Anémies par carence en vitamine B12 ou en folates : anémie de Biermer, anémie par carence

##### Examens d'orientation

- Numération : Anémie macrocytaire normochrome, non régénérative ; macrocytose habituellement très importante (VGM > 120 µm avec TGMH très élevée (> 35 pg) mais CCMH normale (32 à 35 p. 100) ; nombre d'hématies très abaissé, plus que le taux d'hémoglobine, du fait de la macrocytose ; taux de réticulocytes < 1 p. 100. Leuconeutropénie, de l'ordre de 3 000/µl ; les polynucléaires neutrophiles sont de grande taille et ont un noyau hypersegmenté. Thrombopénie modérée, aux alentours de 100 G/l, anisocytose plaquettaire avec présence de plaquettes géantes.
- Frottis : anomalies des hématies : tendance à l'ovalocytose, polychromatophilie avec un certain degré d'hypochromie sur lame, hématies ponctués, corps de Jolly, anneaux de Cabot, érythroblastes dystrophiques
- Biochimie : fer sérique : volontiers élevé (inconstant), bilirubine libre : volontiers élevée (inconstant). L'élévation de ces deux derniers paramètres est le reflet d'une hyperdestruction érythrocytaire.

##### Examens de confirmation

- Myélogramme : à réaliser en dernière instance.

Moelle très riche surtout en érythroblastes qui forment plus de 40 % des cellules médullaires (moelle "bleue"), présence d'érythroblastes dystrophiques, géants, avec cytoplasme hyperbasophile ; à la coloration de Perls, augmentation du taux des sidéroblastes avec présence de quelques sidéroblastes en couronne, gigantisme cellulaire de la lignée granuleuse, myélocytes de grande taille, métamyélocytes géants à noyau rubané, polynucléaires hypersegmentés, mégacaryocytes nombreux et multinucléés.

- Épreuve thérapeutique :

Méthode diagnostique de carence en vitamine B12 peu coûteuse à condition d'utiliser des doses physiologiques (1 à 3 µg/jour) et non pharmacologiques pour obtenir la crise réticulocytaire.

**Anémies hémolytiques** : se référer au chapitre hémolyse

**Pathologies habituellement associées aux anémies par carence** :

- Déficit en vitamines (surtout en rétinol), en protéines et acides aminés indispensables. Se reporter au chapitre concernant les dénutritions et malnutritions.
- Infections diverses.

**Traitement habituel / contrôles d'efficacité des anémies par carence** :

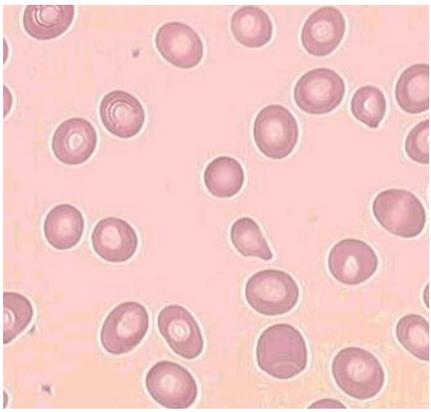
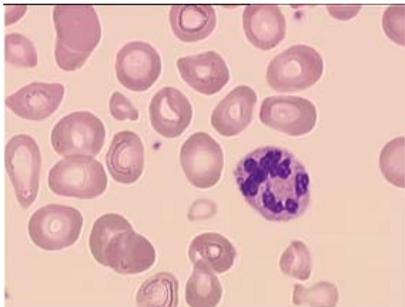
Dans tous les cas, traiter uniquement la carence de l'anémie reste illusoire sans traiter la cause profonde de l'anémie (saignements, déficit alimentaire, parasitose...)

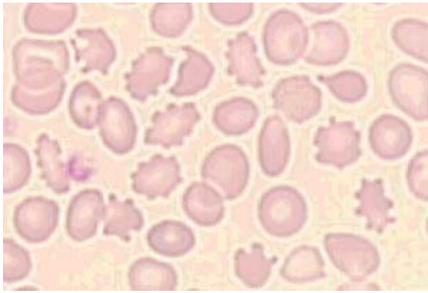
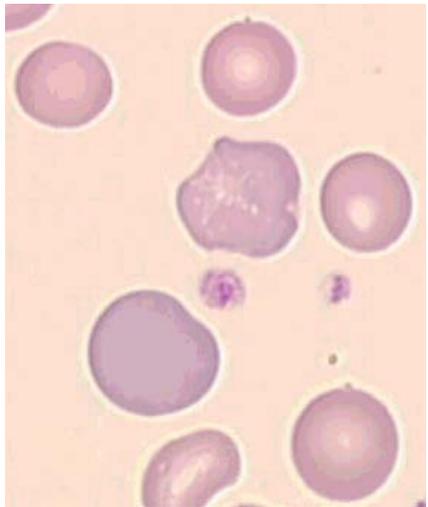
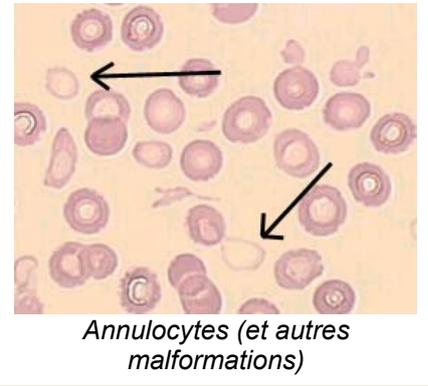
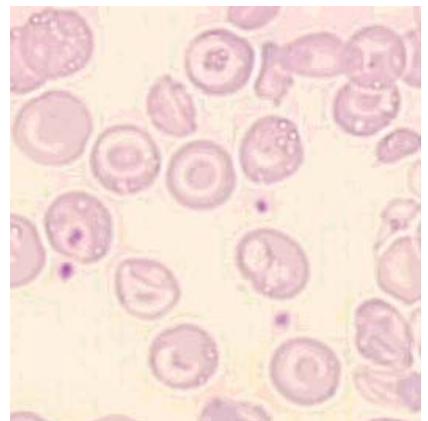
- Carence en fer : On utilise habituellement la voie orale. En cas d'anémie massive, on utilisera en début de traitement la voie injectable (**IM uniquement**). Posologie par voie orale : 100-200 mg/jour chez l'adulte, 6-10 mg/Kg/jour chez l'enfant. La prise se fait à jeun (meilleure absorption).
- Carence en folates : supplémentation en folates : 5-15 mg/jour chez l'adulte, 5-10 mg/jour chez l'enfant, 2,5-5 mg/jour chez le nourrisson.
- Carence en vitamine B12 : le choix de la voie d'administration est à discuter : voie orale en cas de carence d'apport (rare), voie injectable (**IM uniquement**) en cas de problèmes d'absorption. Posologie par voie IM de 1 mg/jour pendant 10 jours puis 1 mg par mois. Posologie par voie orale de 1 mg/jour chez l'adulte et entre 0.25 et 1 mg/jour chez l'enfant.

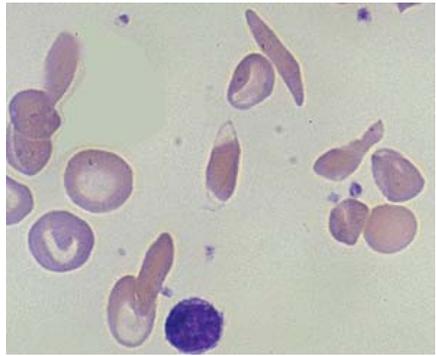
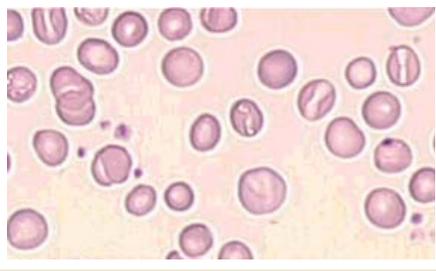
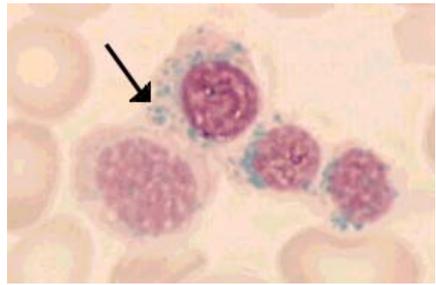
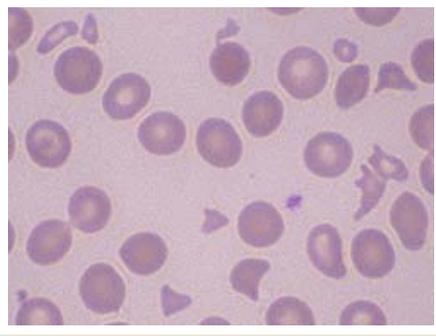
Pour les femmes enceintes, un traitement préventif associant du fer et des folates est vivement conseillé pendant toute la durée de la grossesse. Ce traitement est aussi conseillé chez l'enfant, avec une supplémentation en rétinol et éventuellement en vitamine D.

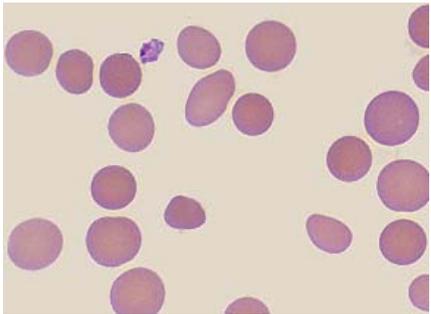
## DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE MORPHOLOGIQUE DES HEMATIES

**Anomalies globales de l'hématie** :

|               |   |   |
|---------------|---|---|
| Anisocytose   |  | L'anisocytose est définie par la grande variabilité des diamètres des hématies sur un même frottis. Elle est habituelle lorsqu'il y a anémie.   |
| Microcytose   |   | La microcytose caractérise des hématies de volume inférieur à la normale et s'observe surtout dans les anémies ferriprives.   |
| Macrocytose   |   | La macrocytose caractérise des hématies de volume supérieur à la normale. Dans certains types d'anémies comme l'anémie de Biermer, la macrocytose est particulièrement importante et l'on parle alors de mégaloctose. |
| Poïkilocytose |  | La poïkilocytose est définie par la grande variabilité de forme des hématies sur un même frottis. Certaines de ces déformations portent des noms particuliers et peuvent orienter le diagnostic étiologique.          |

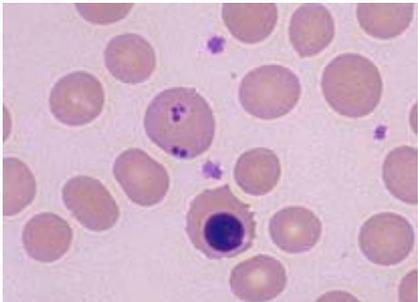
|                    |   |   |
|--------------------|---|---|
| Acanthocytes       |    | <p>Les acanthocytes et les échinocytes sont crénelés, hérissés de spicules, en forme d'oursins. Ces anomalies sont généralement des artefacts dus à l'effet verre de l'étalement sur lame. L'acanthocytose est fréquente dans les anémies des cirrhoses éthyliques.</p>                                 |
| Anisochromie       |    | <p>L'anisochromie, définie par la variabilité de coloration des hématies sur un même frottis, est peu spécifique.</p>   |
| Hypochromie        |   | <p>L'hypochromie est une diminution de coloration de l'hématie due à une désaturation en hémoglobine et va généralement de pair avec une diminution de la CGM. Elle est souvent associée à une microcytose dans les anémies ferriprives, à une macrocytose dans les anémies par dysérythropoïèse.</p>   |
| Polychromatophilie |   | <p>La polychromatophilie, caractérisée par la grande variété de coloration (hématies hypercolorées comme un érythroblaste côtoyant des hématies de coloration normale ou atténuée) s'observe surtout dans les anémies hémolytiques et les dysérythropoïèses.</p>  |
| Annulocytose       |  <p><i>Annulocytes (et autres malformations)</i></p> | <p>Les annulocytes sont vides d'hémoglobine, se présentant sous la forme d'un simple anneau formé par la membrane de l'élément. Cette anomalie va de pair avec l'hypochromie et s'observe dans les grandes anémies ferriprives.</p>   |
| Cellules-cibles    |    | <p>Les hématies cibles (target-cells) ont la forme d'une cible de tir faite d'anneaux concentriques et s'observent dans les anémies ferriprives et les thalassémies.</p> <p>On observe aussi beaucoup de cellules cibles lors des hémoglobinoses C, fréquemment rencontrées dans la boucle du Niger</p> |

|              |  |  |
|--------------|--|--|
| Drépanocyte  |   | <p>Les drépanocytes, caractéristiques de la drépanocytose ou hémoglobinose S, ont la forme de faucilles (hématies falciformes), de bananes, de feuilles de houx. Leur pourcentage sur frottis dépend du caractère hétérozygote ou homozygote.</p>  |
| Dacryocyte   |  | <p>Les dacryocytes sont en forme de larmes, de gouttes, de poires et s'observent surtout au cours des anémies secondaires à une fibrose de la moelle osseuse.</p>  |
| Stomatocyte  |   | <p>Les stomatocytes sont des érythrocytes dont le centre possède une petite fente, comparable à une "petite bouche".</p>   |
| Sidérocytes  |  <p><i>Sidéroblastes (Perls : coloration de moelle)</i></p> | <p>Les sidérocytes sont des hématies contenant des grains de fer mitochondriaux. Ils ne sont visibles qu'après coloration de Perls et forment de petites granulations bleutées, irrégulièrement réparties dans une hématie le plus souvent hypochrome et macrocytaire. Caractéristiques d'un défaut de synthèse de l'hémoglobine et d'une mauvaise incorporation du fer dans celle-ci, les sidérocytes s'observent dans les thalassémies, les anémies sidérolastiques et autres dysérythropoïèses. Ils vont généralement de pair avec un excès de sidéroblastes dans la moelle osseuse (voir Réticulocytes).</p> |
| Schizocytes  |   | <p>Les schizocytes sont des fragments d'hématies résultant de coupures mécaniques donnant aux hématies des formes bizarres, déchiquetées, triangulaires, en chapeau de gendarme, en arc de cercle. Ces schizocytes s'observent dans les anémies hémolytiques</p>   |
| Elliptocytes |  | <p>Les elliptocytes ou ovalocytes sont ovoïdes, ayant la forme de bacilles, de bâtonnets et sont observés en grand nombre dans l'elliptocytose familiale, responsable d'une anémie hémolytique dans sa forme homozygote.</p>   |

|                   |   |   |
|-------------------|---|---|
| Sphérocytes       |  | Les sphérocytes, parfaitement sphériques, apparaissant sur le frottis comme des éléments très foncés et de petit diamètre. On peut les observer dans certains types d'anémies hémolytiques. |
| Rouleau formation |  | La rouleau formation s'observe souvent en cas d'hyperglobulinémie (souvent la fraction gamma). Elle va généralement de pair avec une forte augmentation de la VS.                           |

**Anomalies internes de l'hématie :**

Le cytologiste doit se garder de prendre pour des inclusions intra érythrocytaires des superpositions d'images telles que des plaquettes sanguines collées contre les hématies. Le paludisme réalise de véritables inclusions intra érythrocytaires par parasitisme de l'hématie. Cependant, les hématies les plus jeunes ou réticulocytes contiennent par définition des inclusions réticulo-filamenteuses, mais qui ne sont visibles qu'avec une coloration spéciale (voir réticulocytes).

|                       |   |  |
|-----------------------|---|--|
| Corps de Howell-Jolly |  | Les corps de Jolly sont des petits corpuscules parfaitement sphériques de 1 µm de diamètre, généralement un seul par hématie, correspondant à des restes nucléaires. Ils s'observent dans un grand nombre d'hématies chez les splénectomisés, dans les dysmyélopoïèses et tout particulièrement dans l'anémie de Biermer où ils sont fréquemment plusieurs par hématie.  |
| Anneaux de Cabot      |   | Les anneaux de Cabot sont des figures en anneaux, ronds ou ovales, parfois en huit, formés d'un trait fin de couleur rouge ou violacée. Ils semblent correspondre à des restes du fuseau mitotique. Ils s'observent dans les dysmyélopoïèses, anémies réfractaires et carences vitaminiques.   |
| Corps de Heinz        |   | Les corps de Heinz ne sont visibles qu'après coloration spéciale par le bleu crésyl brillant. Ce sont des granulations et des mottes irrégulières, violettes, situées à la périphérie de l'hématie contre sa membrane. Ils sont dus à des précipités d'hémoglobine dénaturée, toxiques pour la cellule. Ils sont caractéristiques de certaines anémies hémolytiques, soit congénitales par hémoglobinopathies (hémoglobines instables) ou enzymopathies (surtout déficit en G6PD), soit acquises par intoxication (phénacétine). |

|                                |   |   |
|--------------------------------|---|---|
| <p>Ponctuations basophiles</p> |  | <p>Les ponctuations basophiles se distinguent plus facilement si la coloration de la lame est faite avec une eau basique. Il faut donc en demander la recherche. Ce sont de fines granulations bleutées, de taille irrégulière, en nombre variable (10 à 30) saupoudrant le cytoplasme de l'hématie ou de l'érythroblaste (photo). Elles s'observent dans toutes les dysérythropoïèses, mais surtout dans celles qui sont dues à l'intoxication par le plomb. La recherche d'hématies ponctuées reste un examen fiable et peu onéreux dans la surveillance du saturnisme (N &lt; 2 p. 1 000).</p> |
|--------------------------------|---|---|

Les hématies fœtales contiennent de l'hémoglobine F qui peut être mise en évidence par coloration spéciale (test de Kleihauer). Leur recherche peut être utile dans les thalassémies mais surtout dans le sang des mères Rh négatif, au moment de l'accouchement, pour dépister l'importance du passage transplacentaire d'hématies fœtales et mesurer ainsi le risque de maladie hémolytique du nouveau-né par immunisation fœto-maternelle.

## DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE DE L'HÉMOGLOBINE

On est amené à suspecter une anomalie de l'hémoglobine lors d'anomalies de l'hémogramme portant sur la lignée érythroblastique (anémie, hémolyse, hématies anormales sur frottis, ictère ...)

La prévalence de ces pathologies est grande en Afrique et en Asie (grossièrement dans la zone d'endémie du paludisme). On retrouve aussi des cas dans le bassin méditerranéen.

- Drépanocytose
- Thalassémies

## DIAGNOSTIC D'UNE DRÉPANOCYTOSE

Hémoglobinopathie familiale avec formation d'hémoglobine de type S anormale, qui a tendance à se polymériser lorsque l'oxygénation du sang diminue. Elle précipite et donne à l'hématie une forme caractéristique en faucille (hématie falciforme), qui obstrue les capillaires, provoque des thromboses, particulièrement dans les organes très vascularisés : rate, reins, moelle osseuse). De plus, la durée de vie de ces hématies est plus courte, entraînant hémolyse et anémie. Le système phagocytaire est ensuite débordé par ses activités macrophagiques et est moins disponible contre les bactéries, ce qui entraîne une sensibilité accrue du drépanocytaire aux infections.

Tout facteur diminuant l'oxygénation favorise cette falciformation : acidose, déshydratation, stase sanguine, altitude...

### Signes cliniques :

Drépanocytose hétérozygote :  
peu symptomatique cliniquement dans les conditions de vie normale. On parle de "trait drépanocytaire".

Drépanocytose homozygote :  
Début vers 3 mois : anémie avec subictère, splénomégalie modérée.  
Ensuite, la maladie évolue par crises de nature différente :

- Crise hémolytique : anémie forte avec ictère. Une hépatosplénomégalie est de très mauvais pronostic.

- Crise algique aiguë, avec ou sans facteur provoquant, on a une forme soit pulmonaire avec toux et fièvre, soit ostéoarticulaire, soit infectieuse : principale cause de mortalité (pneumocoque, *Haemophilus*, *salmonella*).

Au fur et à mesure, les complications apparaissent :

Ictère, insuffisance rénale, ostéomyélite et nécrose osseuses, ulcères cutanés, hypertrophie cardiaque, fibrose pulmonaire, accidents vasculaires cérébraux ...

La grossesse aggrave l'anémie et augmente la sensibilité aux agents infectieux.

#### Diagnostic biologique :

Réaliser une recherche d'hémoglobine S. A moins d'un très grand nombre de cellules falciformes, il est difficile de différencier les homozygotes des hétérozygotes.

Note : lorsque l'on pratique un prélèvement de sang non réalisé sous vide (donc pas avec un système de type Vacutainer) et que l'on observe des drépanocytes sans aucun traitement particulier du prélèvement, on est soit en face d'une drépanocytose homozygote, soit en face d'une association Thalassémie / Hémoglobine C.

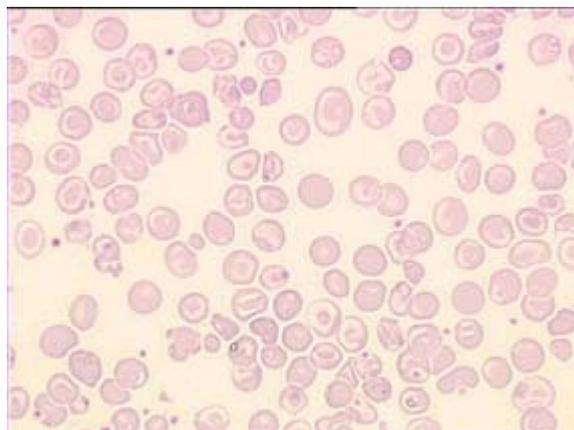
#### Traitement :

- Transfusion si l'hémoglobine est < 60 g/l.
- Traitement symptomatique des infections et de la douleur.
- En prophylaxie, certains conseillent les vasodilatateurs... malheureusement il s'agit de médicaments chers, sensés être pris +/- à vie...

## DIAGNOSTIC D'UNE THALASSÉMIE

Les thalassémies correspondent à une diminution de synthèse des chaînes de globine. On parle de  $\beta$  thalassémie lorsque la diminution de synthèse concerne les chaînes  $\beta$ , et d' $\alpha$  thalassémie pour les chaînes  $\alpha$ . Lorsque la synthèse protéique persiste, il s'agit de  $\beta^+$  ou  $\alpha^+$  thalassémie et en cas de disparition complète de production de  $\beta^0$  ou  $\alpha^0$  thalassémie.

Les thalassémies sont des hémoglobinopathies mais aussi des dysérythropoïèses, avec hémolyse intramédullaire et intravasculaire.



Les moyens diagnostics donnés ici sont fiables mais peuvent être confirmés par une électrophorèse de l'hémoglobine, dans un laboratoire plus perfectionné (envoi de 10 ml de sang périphérique prélevé sur EDTA).

Les thalassémies font partie des anémies hémolytiques.

#### BETA THALASSÉMIES

**Les formes homozygotes ou maladie de Cooley :**  
*bêta thalassémie homozygote*

Clinique :

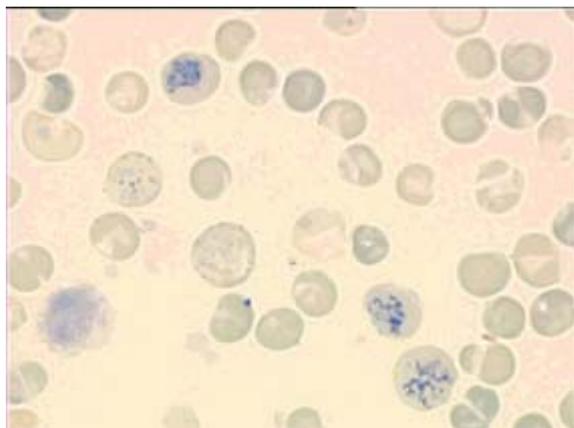
Elles sont caractérisées par une anémie sévère avec ictère apparaissant dès les premiers mois, une splénomégalie constante associée à une hépatomégalie, un retard statur pondéral, une hyperplasie des os de la face.

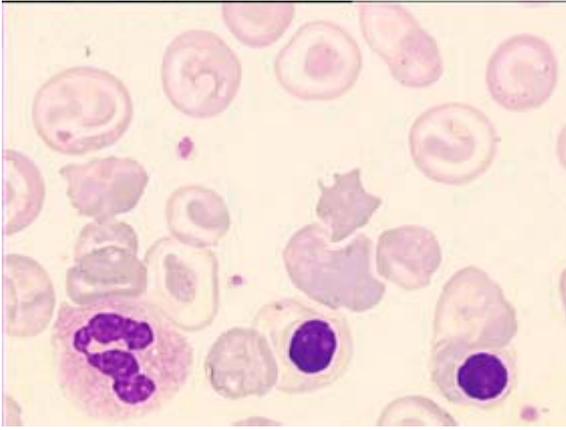
Diagnostic biologique :

On réalise une numération des hématies, une mesure de l'hématocrite, un dosage de l'hémoglobine et le calcul des constantes érythrocytaires, éventuellement on numère les réticulocytes. De plus, on dose la bilirubine et on recherche l'Hb F.

*précipités d'Hb F dans une forme homozygote*

L'hémogramme montre une anémie (< 70 g/l) microcytaire (VGM compris entre 60 et 65 fl) hypochrome, peu régénérative avec présence d'hématies en cible et anisocytose. On observe aussi des corps de Howell-Jolly et des ponctuations basophiles (se reporter aux anomalies des hématies). Les érythroblastes sont fréquents dans le sang périphérique. L'augmentation de la bilirubine libre est le témoin de l'hémolyse.





On observe une augmentation franche de l'Hb F à la coloration.

*forme homozygote : présence d'érythroblastes.*

Traitement des maladies de Cooley :

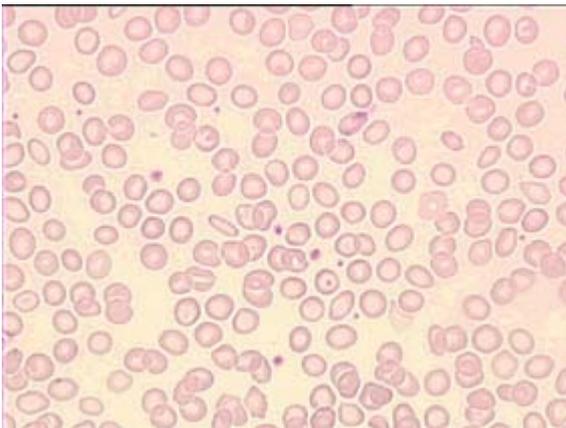
Transfusions régulières, en utilisant la desferioxamine (Desferal) pour chélater le fer libéré par l'hémolyse massive et éviter une hémochromatose. Ce traitement est réalisé dans un hôpital compétent.

#### **Les formes hétérozygotes**

Elles sont cliniquement asymptomatiques.

On réalise les mêmes examens de laboratoire que pour la forme homozygote. L'hémogramme montre une pseudo polyglobulie microcytaire. Un traitement est inutile, cependant, il faut faire attention à la descendance pour

éviter une forme homozygote et réaliser une électrophorèse des conjoints (laboratoire plus perfectionné).



### **ALPHA THALASSÉMIES**

*frottis lors d'une alpha thalassémie*

Clinique :

Il existe 4 gènes codant pour la chaîne  $\Theta$ . La gravité de l'expression clinique est fonction du nombre de gènes délétés :

1- L' $\Theta^{\circ}$  thalassémie ( $\Theta - \Theta^{-}$ ,  $\Theta - \Theta^{-}$ ) est responsable d'un anasarque fœto-placentaire. La délétion des quatre gènes est létale. L'hémoglobine présente à la naissance est l'HbG 4 ou Hb Bart.

2- ( $\Theta + \Theta^{-}$ ,  $\Theta - \Theta^{-}$ ) est responsable d'une anémie microcytaire avec initialement une Hb Bart remplacée ensuite par une HbH(b 4).

3- ( $\Theta + \Theta^{+}$ ,  $\Theta - \Theta^{-}$ ) est responsable d'une polyglobulie microcytaire sans anémie. L'Hb Bart est inférieure à 5% à la naissance puis disparaît.

4- ( $\Theta + \Theta^{+}$ ,  $\Theta + \Theta^{-}$ ) est silencieuse. L'Hb Bart est à l'état de trace. La délétion d'un seul gène est responsable d'un faible trait thalassémique.

Diagnostic biologique :

Mêmes examens que pour la  $\beta$  thalassémie à l'exception de la recherche de l'HbF, remplacée par celle de l'HbH. On retrouve d'autant plus d'HbH que le nombre de gènes délétés est grand. Ce diagnostic est fortement présomptif mais demande confirmation par une électrophorèse de l'hémoglobine.

Traitement :

Le traitement repose sur la transfusion (lorsque l'hémoglobine est inférieure à 100 g/l), la lutte contre l'infection, la prévention des carences en folates (voir anémies par carence) et de l'hémochromatose secondaire (utilisation de desferioxamine).

### **DÉFICIT EN G6PD**

On distingue deux grands types de déficits enzymatiques : le déficit en G6PD (Glucose 6 Phospho Déshydrogénase) et le déficit en pyruvate kinase, plus rare et que nous n'aborderons pas ici.

#### **Généralités :**

Ce déficit, lié au sexe masculin (femmes vectrices et peu touchées, hommes malades), est souvent provoqué par l'absorption de certains médicaments. Il cause deux types de pathologies :

- Un anémie hémolytique
- Une jaunisse néonatale, parfois grave et pouvant conduire à la mort. L'enfant doit être transporté d'urgence dans un centre hospitalier disposant d'une unité de réanimation.

#### **Diagnostic du déficit :**

Le déficit peut être mis en cause lors de crises hémolytiques répétées et sans origine définie. Procéder à un prélèvement de sang veineux recueilli sur citrate. Il est nécessaire de disposer d'un témoin négatif (un homme ne faisant pas de crise hémolytique en prenant de la chloroquine). Procéder ensuite à une recherche du déficit en G6PD.

**Médicaments interdits chez une personne présentant un déficit en G6PD :**

|  |  |
|--|--|
| <p><b>Analgésiques et antipyrétiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• acétanilide</li> <li>• acétaminophène (phénacétine)</li> <li>• amidopyrine (aminopyrine)</li> <li>• antipyrine</li> <li>• aspirine</li> <li>• phénacétine</li> <li>• probénicide</li> <li>• pyramidone</li> </ul> <p><b>Antipaludéens</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• chloroquine</li> <li>• hydroxychloroquine</li> <li>• mépacrine (quinacrine)</li> <li>• pamaquine</li> <li>• pentaquine</li> <li>• primaquine</li> <li>• quinine</li> <li>• quinocide</li> </ul> <p><b>Sulfonamides / sulfones</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• dapsone</li> <li>• sulfacétamide</li> <li>• sulfamethoxyypyrimidine</li> <li>• sulfanilamide</li> <li>• sulfapyridine</li> <li>• sulfasalazine</li> <li>• sulfisoxazole</li> </ul> | <p><b>Divers</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• alphas-méthyl-dopa</li> <li>• acide ascorbique (vitamine C)</li> <li>• dimercaprol (BAL)</li> <li>• hydralazine</li> <li>• mestranol</li> <li>• bleu de méthylène</li> <li>• naphthalène</li> <li>• niridazole</li> <li>• phenylhydrazine</li> <li>• pyridium</li> <li>• quinine</li> <li>• bleu de toluidine</li> <li>• trinitrotoluène</li> <li>• urate oxydase</li> <li>• vitamine K</li> </ul> <p><b>Antibactériens</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• chloramphénicol</li> <li>• cotrimoxazole</li> <li>• furazolidone</li> <li>• acide nalixidique</li> <li>• nitrofurantoïne</li> <li>• nitrofurazone</li> <li>• PAS</li> <li>• acide paraaminosalicylique</li> </ul> <p><b>Antiarythmiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• procainamide</li> <li>• quinidine</li> </ul> |
|--|--|

**DIAGNOSTIC D'UNE HÉMOLYSE ET DE SES CAUSES**

**Il y a différents types d'hémolyses pathologiques :**

- Liées à des hémoglobine anormales (thalassémies, drépanocytose)
- Liées à des déficits enzymatiques de l'hématie (déficit en G6PD, en pyruvate kinase)
- Associée au paludisme
- Maladie hémolytique du nouveau-né (anticorps anti-Rhésus)
- Associé à la prise de certains médicaments (entre autre les pénicillines)
- Associé à certaines infections (septicémies bactériennes, viroses)
- Suite à une transfusion de sang incompatible
- Sphérocytose héréditaire

**Signes cliniques :**

fièvre, frissons, pâleur livide, signes de choc : hypotension, tachycardie, oligo-anurie, douleurs abdominales, vomissements, diarrhée, lombalgies, urines rouges, céphalées, douleurs des membres.

**Signes biologiques généraux :**

- Diminution de l'hémoglobine : calcul des constantes érythrocytaires : anémie normochrome, en principe normocytaire, parfois sévère.
- Une augmentation de la bilirubine sérique, essentiellement la bilirubine non conjuguée.
- Une hémoglobinurie (coloration caractéristique de l'urine sans hématurie : pas d'hématies présentes dans l'urine à l'examen direct du culot urinaire). Ceci n'est visible qu'en cas d'hémolyse majeure.
- Une augmentation des pigments biliaires dans l'urine

**Signes biologiques spécifiques :**

| Type d'hémolyse                          | Diagnostic spécifique   |
|--|---|
| Hémoglobines anormales                   | Se référer aux chapitres concernés : hémoglobines anormales et déficits enzymatiques. |
| Déficits enzymatiques                    |   |
| Associé au paludisme                     | Diagnostic du paludisme   |
| Maladie hémolytique du nouveau-né        | Test de Coombs  |
| Associé aux médicaments                  | Contexte clinique et médicamenteux.   |
| Associé à des infections généralisées    | Hémoculture, CRP, VS.   |
| Associé à une transfusion non compatible | Contexte clinique   |
| Sphérocytose héréditaire (rare)          | Test de fragilité osmotique des hématies  |

**EXPLORATION DES LEUCOCYTOSES ET DES LEUCOPÉNIES**

Les anomalies sanguines des leucocytes et de la formule leucocytaire peuvent être quantitatives ou qualitatives. Ne pas oublier qu'il existe certaines particularités hématologiques en Afrique noire. Pour les explorer, on réalise une numération des leucocytes et une formule leucocytaire

**Anomalies quantitatives touchant une lignée préférentiellement :**

1- Polynucléaires neutrophiles :

Leur augmentation (polynucléose) est généralement comprise entre 10 et 20 G/l. Elle peut atteindre exceptionnellement des chiffres très élevés (>40 G/l) pouvant évoquer une prolifération maligne. Les polynucléoses s'observent surtout :

- dans les infections bactériennes
- dans les infections parasitaires (paludisme, amibiase tissulaire, ...).
- dans les syndromes inflammatoires.
- dans les cas de grand tabagisme.
- au cours des hémorragies et des hémolyses (régénération médullaire)
- dans les proliférations malignes hématologiques.

Leur diminution (neutropénie si < à 1.5 G/l) est due à différentes causes :

- dans certains types d'infections virales (fièvres hémorragiques)
- avec certaines infections bactériennes (brucella, fièvre typhoïde, tuberculose...).
- dans les leishmanioses viscérales
- accompagnant les anémies par carence.

Les neutropénies chroniques sont le plus souvent toxiques, les causes médicamenteuses (voir agranulocytose) étant les plus fréquentes. Il faut cependant souligner la fréquence des fausses neutropénies par hyper margination des polynucléaires sur les parois capillaires.

On parle d'agranulocytose si les PNN sont  $< 0.5$  G/l. Le plus souvent il s'agit d'une origine médicamenteuse : antithyroïdiens, phénylbutazone, indométacine, sulfamides, chloramphénicol, phénothiazines (antihistaminiques), triméthoprime, amidopyrine, L Dopa, diurétiques thiazidiques, phénytoïne. A l'arrêt du traitement, la normalisation se fait en une à deux semaines.

2- Polynucléaires éosinophiles :

Devant une hyperéosinophilie ( $> 1$  G/l), l'orientation diagnostique se fait en fonction des signes d'accompagnement :

- *signes cutanés* (prurit généralisé ou localisé, prurigo, larva migrans, œdème dur): filarioses : loase, onchocercose, filariose lymphatique ou anguillulose.
- *signes pulmonaires*: - dyspnée asthmatiforme: phases invasives d'ascaridiose et de bilharzioses ou anguillulose, paragonimose.
- *signes musculaires*: trichinose, toxocarose.
- *signes hépatiques*: bilharziose : bilharziose d'invasion, bilharziose intestinale à la phase d'état, fasciolose, hydatidose.
- *signes digestifs* : - douleurs épigastriques : ankylostomiase, anguillulose, anisakiase, -douleurs abdominales, ballonnements : tæniase; - diarrhée, dysenterie : bilharziose intestinale, distomatose intestinale, trichocéphalose, anguillulose maligne.
- *prurit anal*: oxyurose.
- *signes urinaires* : hématurie, dysurie, infection urinaire: bilharziose urinaire; chylurie: filariose lymphatique

Étiologies parasitaires les plus fréquemment en cause devant une hyperéosinophilie importante ( $>1$  G/l) :

- filarioses (loase, onchocercose, filariose lymphatique)
- anguillulose
- trichinose
- fasciolose.

Devant une hyperéosinophilie qui ne fait pas sa preuve parasitaire, ne pas oublier d'envisager des étiologies non parasitaires (collagénoses, cancers, hémopathies, allergies diverses).

3- Polynucléaires basophiles : leur augmentation (basophilie) est rare et s'intègre presque toujours dans un tableau hématologique caractéristique de leucémie myéloïde chronique avec forte myélobémie.

4- Lymphocytes :

Leur augmentation (lymphocytose) a une signification différente selon que la morphologie est monomorphe ou polymorphe :

- Les lymphocytoses monomorphes sont dues, chez l'adulte, à une leucémie lymphoïde chronique, chez l'enfant, elles sont habituellement dues à la coqueluche.
- Les lymphocytoses polymorphes réalisent ce que l'on appelle un syndrome mononucléosique. Les lymphocytes sont supérieurs à 8G/l chez l'enfant et supérieurs à 4 G/l chez l'adulte. On observe tous les stades du lymphocyte : du petit lymphocyte au grand lymphocyte à cytoplasme basophile en passant par le plasmocyte ou l'immunoblaste.  
Les étiologies sont diverses :
  - virales : mononucléose infectieuse, cytomegalovirus, hépatite, rubéole, primo-infection VIH, etc.
  - parasitaires : toxoplasmose
  - bactérienne
  - réactions immunitaires post-infectieuses non spécifiques.

Leur diminution (lymphopénie) s'observe entre autre dans le SIDA, les lymphomes Hodgkiniens, la poliomyélite et dans certaines tumeurs.

5- Monocytes : leur augmentation (monocytose) peut être due à des infections (tuberculose notamment) ou être le principal signe d'une prolifération maligne monocyttaire ou myélomonocyttaire (voir les proliférations malignes hématologiques).

### **Anomalies quantitatives touchant toutes les lignées : pancytopénie**

Dans ce cas, toutes les lignées sanguines sont abaissées. Un myélogramme est nécessaire pour différencier les pancytopénies centrales et périphériques :

- Pancytopenie centrale : moelle pauvre :
  - aplasie
  - envahissement médullaire au cours d'hémopathies malignes
  - tuberculose
  - fort alcoolisme
- Pancytopenies périphériques (moelle riche ou très riche) sont plus rares : séquestration splénique, maladie de système (lupus), hémoglobinurie nocturne paroxystique.

### **Anomalies qualitatives :**

Elles portent sur la présence dans le sang d'éléments étrangers ou sur l'existence d'anomalies morphologiques. Se reporter à l'aspect des cellules hématologiques

- La myélémie est définie par la présence dans le sang de cellules précurseurs des polynucléaires ; elle peut s'associer à des précurseurs des érythroblastes.

- Une myélémie modérée, faite de quelques métamyélocytes, est le plus souvent la marque d'une régénération médullaire après une agression toxique, une anémie, une infection ou une hémorragie.
- Une myélémie importante, faite d'éléments plus jeunes (myélocytes, promyélocytes, voire myéloblastes), traduit généralement un syndrome myéloprolifératif

- Les blastes, éléments médullaires les plus jeunes sans aucune cellule intermédiaire avec les leucocytes mûrs (hiatus de maturation), caractérisent les leucémies aiguës, qui peuvent être différenciées en myéloblastiques ou lymphoblastiques.

- La présence de lymphocytes anormaux caractérise certaines maladies lymphoprolifératives particulières.

- Des anomalies morphologiques du cytoplasme ou du noyau des polynucléaires caractérisent des affections congénitales ou des processus leucémiques.

Dans tous les cas, un aspect inhabituel des cellules sanguines (contour, noyau, nucléole...) doit toujours être suivi de l'envoi des lames à une personne compétente. A cet effet, on prépare généralement 3 lames colorées au MGG et trois lames fixées mais non colorées que l'on enverra à un centre hospitalier important.

### **DIAGNOSTIC D'UNE HÉMOPATHIE MALIGNE**

On entend par hémopathie maligne un groupe de pathologies regroupant les leucémies et les lymphomes. Il est bien entendu que le laboratoire périphérique ne peut avoir qu'un simple (mais primordial !) rôle de dépistage. La personne chez qui on suspecte ces pathologies doit être envoyée d'urgence dans un grand centre hospitalier.

Les pathologies malignes hématologiques répondent bien aux traitements, spécialement chez les enfants. La mise en place d'un traitement est donc parfaitement justifiée. De plus, il existe maintenant de nombreux anticancéreux disponibles en génériques, ce qui diminue leur coût et augmente leur accessibilité. Le laboratoire a donc toute sa place dans le diagnostic et éventuellement le suivi d'une hémopathie.

On distingue :

- LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique
- LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
- LA : Leucémie Aiguë
- Lymphome de Burkitt
- Lymphome malin Hodgkinien

Annexe : liste des anticancéreux disponibles en génériques

#### **LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique :**

Maladie rencontrée généralement chez le sujet âgé.

Signes cliniques :

- adénopathies symétriques disséminées

- splénomégalie constante, hépatomégalie inconstante
- complications : bactériennes et hémorragiques

Diagnostic biologique :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux et réaliser une numération (GB, GR, plaquettes) formule leucocytaire et un dosage de l'hémoglobine. On observe :

- une hyperleucocytose (> 50 G/l) avec une hyperlymphocytose, composée de petits lymphocytes identiques, d'apparence normale
- une anémie
- une thrombopénie

Traitement et pronostic :

- Sujet très âgé : abstention thérapeutique
- Sujet plus jeune : corticothérapie, chimiothérapie.

### **LMC : Leucémie Myéloïde Chronique :**

Maladie rare, généralement entre 30 et 50 ans

Signes cliniques :

- Splénomégalie indolore très volumineuse, pas d'adénopathies, souvent découvert par ses complications : goutte, thrombose, hémorragie ...
- La maladie évolue par trois phases : chronicité (environ 4 ans), accélération (quelques mois) et acutisation (quelques semaines), le tout aboutissant à la transformation en leucémie aiguë myéloïde.

Diagnostic biologique :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux et réaliser une numération (GB, GR, plaquettes) formule leucocytaire et un dosage de l'hémoglobine. On observe :

- une hyperleucocytose **majeure** : souvent > 100 G/l. Myélémie avec une distribution "pyramidale" caractéristique de la lignée des polynucléaires neutrophiles : quelques myéloblastes, 5% de promyélocytes, 10 % de myélocytes, 15-20% de métamyélocytes et 30-40% de PNN matures.
- Lymphocytes et monocytes normaux.
- Plaquettes normales ou augmentées.
- Hémoglobine normale ou légèrement abaissée.

Traitement et pronostic :

Le pronostic est sombre, le but du traitement est de maintenir le plus longtemps le malade en phase de chronicité et d'éviter l'acutisation, pourtant inéluctable.

On utilise en général l'hydroxyurée et le busulfan.

### **LA : Leucémie Aiguë :**

Hémopathie de l'adulte ou de l'enfant.

Signes cliniques :

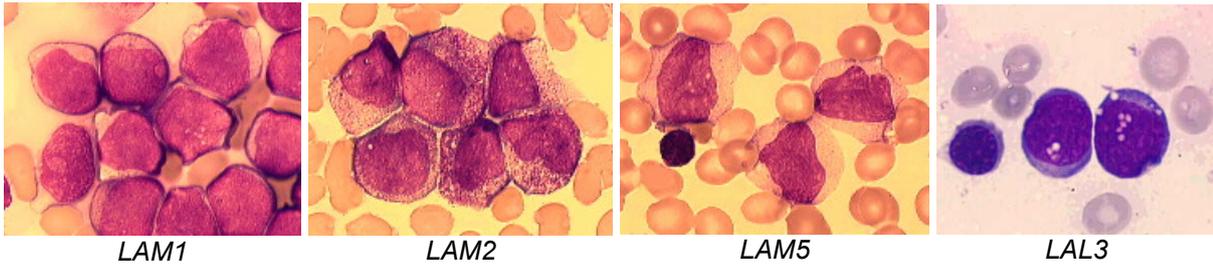
- Asthénie, adénopathies splénomégalie
- fièvre, purpura cutanéomuqueux, angine chez l'enfant

Diagnostic biologique :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux et réaliser une numération (GB, GR, plaquettes) formule leucocytaire et un dosage de l'hémoglobine. On observe :

- hyperleucocytose avec de très nombreux blastes (souvent > 80%)
- anémie arégenerative, neutropénie, thrombopénie

La présence de 30% de blastes suffit pour affirmer le diagnostic. Le traitement dépend du type de leucémie aiguë (lymphoblastique LAL 1 à 3 et myéloblastique LAM 1 à 7), obtenu généralement par des techniques histochimiques complexes. La maladie doit être envoyée dans un centre spécialisé.



Traitement et pronostic :

- Chimiothérapie
- La guérison est plus facile à obtenir chez l'enfant (surtout < 8 ans) que chez l'adulte.

### Lymphome de Burkitt :

Le lymphome de Burkitt est une tumeur du système lymphatique à cellules d'aspect très caractéristique. Il se présente en Afrique (presque toute l'Afrique sub-saharienne sauf l'Afrique du Sud) sous la forme d'une tumeur de la joue de l'enfant, spécialement entre 4 et 8 ans. C'est une tumeur très proliférante, qui envahit la moelle osseuse, les méninges et les séreuses. Son origine virale est très probable (virus d'Epstein Barr, ou EBV).

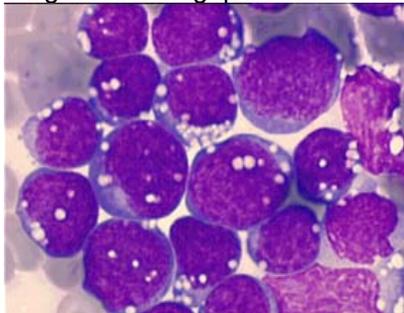
*Lymphome de Burkitt de l'enfant*

Signes cliniques :

- Tuméfaction maxillo-faciale indolore déformant énormément le visage.
- Amaigrissement, puis dissémination de la tumeur et mort en quelques mois.

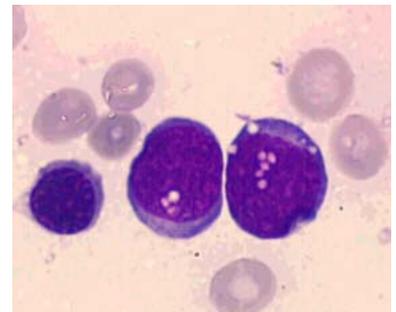


Diagnostic biologique:



#### *Cellules lymphomateuses de type Burkitt*

Le diagnostic ne peut être affirmé qu'après prélèvement d'un ganglion ou réalisation d'empreintes de biopsie de tumeur, que l'on colorera au MGG. Les principales caractéristiques de ce lymphome de haute malignité sont les suivantes :



- cellules tumorales monomorphes, de petite taille (10-12 µm), à noyau rond et multinucléolé, à cytoplasme peu abondant, hyperbasophile et très vacuolisé
- infiltration tumorale diffuse.

Le myélogramme apporte la preuve de l'infiltration tumorale de la moelle. Ce lymphome est classé comme une leucémie aiguë lymphoblastique de type 3 (LAL3). Des formes leucémiques peuvent se voir, elles sont cependant rarement initiales

Traitement et pronostic :

Le traitement repose exclusivement sur la chimiothérapie qui est intensive et courte. C'est une urgence thérapeutique. Les taux de guérison sont de 90% (ce qui justifie son diagnostic et son traitement) mais au prix d'un traitement difficile.

### Lymphome malin Hodgkinien :

Maladie pouvant se voir à tout âge, mais plus spécifique de l'adulte jeune.

Signes cliniques :

- Adénopathie superficielle, unique ou multiple, indolore, ferme, non compressive, non inflammatoire, longtemps mobile, le plus souvent sus-claviculaire, ou encore axillaire ou cervicale.
- Fièvre prolongée, sueurs nocturnes, altération de l'état général, amaigrissement, prurit ...
- Complications infectieuses

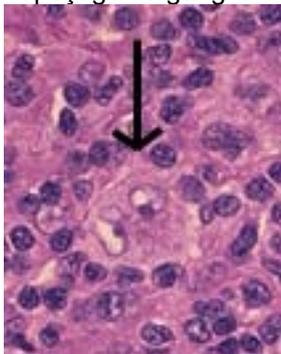
La radiologie permet d'apercevoir une opacité médiastinale.

Diagnostic biologique :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux et réaliser une numération (GB, GR, plaquettes) formule leucocytaire et un dosage de l'hémoglobine. On observe :

- Une légère lymphopénie, une discrète éosinophilie, une rare anémie.

Pratiquer un prélèvement d'un ganglion, réaliser des frottis, des appositions et des lames par écrasement et dépeçage du ganglion. Colorer au MGG.

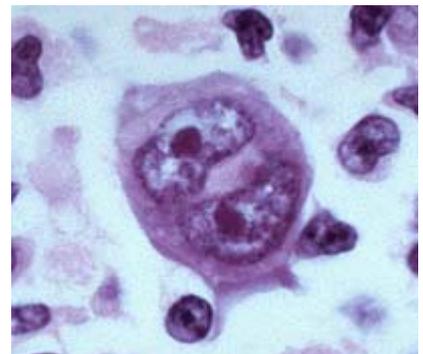


*Cellules de Reed Sternberg à faible et à fort grossissement*

On observe des nodules cellulaires, une prédominance lympho-histiocytaire, des lymphocytes en grappe.

La présence de cellules de Reed Sternberg (inconstant mais fréquent) constitue la certitude diagnostique.

Il est évident que ces méthodes diagnostiques uniquement cytologiques (et non histologiques ou immunohistochimiques) sont insuffisantes pour préciser le stade et le grade de la maladie. Le



malade doit ensuite être confié à un centre spécialisé en oncologie ou hématologie, tant pour préciser le diagnostic que pour instaurer le traitement.

Traitement et pronostic :

Rapidement diagnostiqué, à un stade précoce de la maladie, puis rapidement et correctement soigné, on obtient des rémissions de 90%.

Les protocoles les plus employés sont :

- MOPP : caryolysine, vincristine, procarbazine, prednisone
- ABVD : adriamycine, bléomycine, Velbé, Deticène (tous ne sont pas disponibles en génériques).

**Liste des anticancéreux disponibles en génériques :**

- asparaginase
- bleomycine
- chlorméthine
- cisplatine
- cyclophosphamide
- cytarabine
- dacarbazine
- actinomycine D
- doxorubicine
- etoposide
- fluorouracile
- mercaptopurine
- methotrexate
- procarbazine
- vinblastine
- vincristine

## DIAGNOSTIC D'UNE PATHOLOGIE DE L'HÉMOSTASE

Les pathologies de l'hémostase sont des pathologies complexes, faisant appel à un grand nombre de tests de laboratoire, chers, et nécessitant des réactifs à péremption très rapide.

Ce guide n'a pas la prétention d'explorer finement l'hémostase, mais donne le moyen de réaliser quelques tests de "débrouillage", qui orienteront ou non un patient vers un centre plus spécialisé.

Ces tests sont aussi utiles lors de bilans préopératoires.

L'hémostase peut se diviser en trois phases :

- L'hémostase primaire
- La coagulation
- La fibrinolyse

### HÉMOSTASE PRIMAIRE

L'hémostase primaire consiste en la formation du clou thrombocytaire. Les principaux acteurs de cette phase sont : plaquettes, facteur Von Willebrand, ADP, collagène, fibrinogène ...

Aspects cliniques de pathologies de l'hémostase primaire : épistaxis, saignements gingivaux, purpura ...

#### Exploration biologique :

Réaliser un temps de saignement de manière très rigoureuse. Ensuite, réaliser une numération des plaquettes.

Un allongement **franc** du temps de saignement est en faveur d'une pathologie de l'hémostase primaire :

- Accompagné d'une diminution des plaquettes : thrombopénie
- Sans diminution des plaquettes : thrombopathie ou déficit en facteur Von Willebrand

Se reporter au chapitre thrombopénies et thrombopathies

### COAGULATION

La coagulation consiste en la formation de thrombine, permettant la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble puis sa polymérisation, formant ainsi le caillot véritable. Les principaux acteurs de cette phase sont : plaquettes (rôle de support des réactions), facteurs de la coagulation, fibrinogène.

**Clinique** : saignements, ecchymoses, saignements digestifs, ombilicaux, hémarthroses dans les cas sévères (hémophilie) ...

#### Exploration biologique :

Deux voies sont possibles pour activer les phénomènes qui conduiront au caillot :

- La voie intrinsèque, explorée par le Temps de Céphaline Activée (TCA)
- La voie extrinsèque, explorée par le Temps de Quick ou Taux de Prothrombine (TP)

Ces deux tests requièrent des réactifs spécifiques, assez chers, et difficilement préparables par soi-même. Ce guide donne pourtant un moyen de fabriquer de la thromboplastine (réactif du TP) à base de cerveau de lapin. Cependant, tous les lots produits doivent être contrôlés et validés en parallèle à des réactifs du commerce (STAGO, bioMérieux ...). Cette fabrication n'est valable que si un laboratoire central en prépare de grandes quantités, pour lui-même et pour les autres laboratoires périphériques.

Cependant, on peut pratiquer une estimation globale de la coagulation, à l'aide d'un petit dispositif facile à construire. Ce test a été utilisé avec succès pendant un an par un expatrié anglais au Kenya, traité à l'acénocoumarol (Sintrom), et loin de tout laboratoire permettant d'adapter les posologies en fonction du TP. Si l'on procède soigneusement, ce test est fiable et très reproductible.

En cas d'allongement franc de ce test, on refait toujours le test une deuxième fois avant d'aller plus loin.

Ensuite, suivant la clinique associée, différents cas peuvent se présenter :

- Patient sous anticoagulants oraux : contrôle de posologie.
- Clinique et autres tests compatibles avec une insuffisance hépatique : retentissement de la baisse de synthèse de facteurs de coagulation par le foie.
- Contexte de malnutrition, suspicion d'une hypovitaminose K (apport normal de vitamine K à 70% par la nourriture) : procéder à une injection de vitamine K (1 mg/Kg chez l'enfant, 25 mg chez l'adulte) et recommencer le test 24 heures après : il y a normalisation. Cette situation se rencontre essentiellement chez le nouveau-né, le plus souvent au bout de 3 jours. Cette situation est favorisée

par la prématurité, la gémellité et une antibiothérapie. Les saignements sont diffus : épistaxis, ecchymoses, ombilicaux, digestifs...le principal danger étant l'hémorragie méningée.

- Famille connue pour des déficits en facteurs de coagulation, notion de mariage dans la même famille, de consanguinité... on pense à une maladie génétique (hémophilie entre autre). Le patient doit être envoyé dans un gros centre hospitalier pour y effectuer un bilan complet.
- Si on peut réaliser le TP, on peut mélanger 1 ml de plasma du malade et 1 ml de plasma normal (TP > 80%) puis refaire le TP sur le mélange. S'il est normalisé, on s'oriente vers un déficit en facteurs de la coagulation. Si le TP reste bas, on s'oriente vers un anticoagulant circulant.

## FIBRINOLYSE

La fibrinolyse est la dernière partie de l'hémostase, c'est pendant cette phase qu'a lieu la rétraction du caillot. Cette partie est explorée par le Temps de lyse du caillot.

On observe une fibrinolyse aiguë :

- Lors d'un choc infectieux, d'un accès pernicieux palustre.
- Lors d'hémopathies malignes, de cancers.
- Lors de chirurgie lourde
- Lors de complications obstétricales
- Lors de morsures de serpents
- Lors de brûlures étendues
- ...

Ces fibrinolyse aiguës s'accompagnent très fréquemment de thrombopénies par hyperconsommation.

## DIAGNOSTIC D'UNE THROMBOPÉNIE, D'UNE THROMBOCYTOSE OU D'UNE THROMBOPATHIE

On peut aussi se référer aux particularités hématologique en Afrique noire.

### Définitions :

- Une thrombopénie correspond à un nombre de plaquettes < 120 G/l
- Une thrombocytose correspond à un nombre de plaquettes > 400 G/l
- Une thrombopathie est un dysfonctionnement plaquettaire.

En dehors de toute thrombopathie, le risque hémorragique est très faible si les plaquettes sont > 50 G/l, faible entre 30 et 50 G/l et réel < 30 G/l.

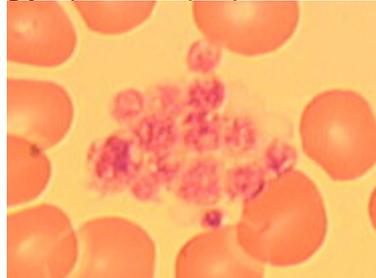
### Numération des plaquettes :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux recueilli sur EDTA ou pratiquer un prélèvement de sang capillaire puis réaliser une numération des plaquettes.

### Thrombopénies et thrombopathies :

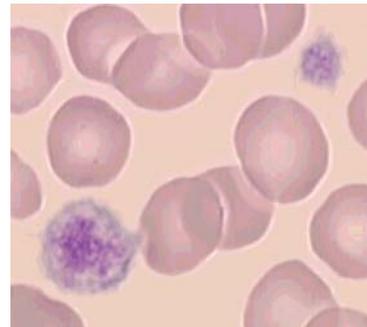
La découverte d'une thrombopénie est soit fortuite (numération de routine ou pour un bilan préopératoire) soit lors de l'exploration d'une pathologie hémorragique.

La découverte d'une thrombopathie fait suite à un épisode hémorragique lors de son exploration. On retrouve les mêmes signes cliniques que lors d'une thrombopathie mais souvent de manière plus prononcée ou moins ponctuelle. Les thrombopathies sont des maladies rares, généralement des mutations des glycoprotéines plaquettaires. On observe un purpura non thrombopénique.



*Amas plaquettaire (à gauche),  
macrothrombocyte (à droite), MGG*

Lors d'une thrombopénie non connue, toujours réaliser un frottis sanguin coloré au MGG pour vérifier la densité plaquettaire, la forme et la taille des plaquettes, des agrégations plaquettaires ayant faussé la numération (0.1 % des personnes ont des plaquettes qui agrègent spontanément à l'EDTA, refaire une numération en utilisant



du citrate) et d'autres anomalies portant sur les lignées rouges et blanches.

### Clinique :

Le principal signe clinique grave de la thrombopénie est le purpura : taches hémorragiques pourpres, non effaçables à la pression. Elles existent sous différentes formes.

- Pétéchial : macules de 1 à 2 mm rouge sombre
- Ecchymotique : suffusion hémorragique en placard
- Vibices : ecchymoses linéaires aux plis de flexion

On peut aussi observer des purpuras vasculaires

**Étiologies** : à confirmer par un myélogramme, une fois la thrombopénie établie. La thrombopénie n'est pas une contre-indication du myélogramme.

Problème hématologique : purpuras thrombopéniques centraux, mégacaryocytes diminués.

- Aplasie médullaire
- Dysmyélopoïèse
- Carence en folates et/ou en vitamine B12
- Envahissement médullaire malin
- Toxiques ...

Problème extra-hématologique : mégacaryocytes normaux ou augmentés, dans les cas graves, on peut aussi observer un purpura.

- Paludisme : on observe fréquemment une thrombopénie lors d'un accès palustre.
- Hypersplénisme, hyperdestruction splénique.
- Hémorragie massive
- Septicémies, CIVD
- Virus : VIH, rougeole, MNI, hépatites B et C ...
- Prise de certains médicaments (immuno-allergique).
- Allo-immunisation fœto-maternelle avec thrombopénie néonatale.
- Purpura thrombopénique immunologique.

On observe fréquemment une thrombopénie bénigne en fin de grossesse

**Traitement** :

- Traitement de la cause de la thrombopénie
- Éventuellement, transfusion de concentrés plaquettaires

**Thrombocytoses** :

**Thrombocytoses primitives** :

- Thrombocytémie essentielle : Syndrome myéloprolifératif. Plaquettes souvent > 1000 G/l, énormes, sans anomalie des autres lignées, myélogramme inutile (moelle riche). Traitement en milieu spécialisé, bonne réponse à la chimiothérapie.
- Autres syndromes myéloprolifératifs : Maladie de Vaquez, LMC, splénomégalie myéloïde.

**Thrombocytoses secondaires** :

- Carence martiale
- Syndrome inflammatoire chronique : tuberculose, vascularite, sarcoïdose, cancer.
- Après une hémorragie, après une opération
- Exercice physique, grossesse.
- Après splénectomie.

## DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE INFECTION

## DIAGNOSTIC D'UNE MÉNINGITE

### Clinique :

#### Méningite à liquide trouble :

- Chez l'adulte et les grands enfants : fièvre brutale, céphalées intenses et vomissements, raideur de la nuque, contractures musculaires.
- Chez le nourrisson : céphalée non exprimée, nuque molle, diarrhée, bombement de la fontanelle en position assise, éventuellement convulsions. Le diagnostic est délicat.

Complications : méningococcémie, avec purpura, état de choc et très forte mortalité.  
Attention, on peut parfois confondre une méningite avec un accès palustre.

#### Méningite à liquide clair :

- Méningite à *Leptospira* : on peut observer une atteinte neuroméningée lors d'une leptospirose. On observe une fièvre élevée, des frissons, des maux de tête, des myalgies, une prostration, des adénopathies et une hépatosplénomégalie.

- Méningite tuberculeuse : notion de contagé récent, d'épisode antérieur ...

- Chez l'enfant : au début : fièvre, amaigrissement, asthénie, céphalées. Ensuite, apparition brutale de signes neurologiques : photophobie, vomissements, convulsions ...
- Chez le nouveau-né : peu de signes spécifiques avant les signes neurologiques, pronostic réservé.
- Chez l'adulte : trompeur, d'allure psychiatrique ou tumoral.

#### Prélèvements et analyses :

Pratiquer une ponction lombaire suivie des analyses nécessaires. On obtient donc :

- L'aspect du LCR, du surnageant et du culot de centrifugation.
- Le nombre de GB, de GR et des autres éléments nucléés
- La présence éventuelle de germes à l'examen direct entre lame et lamelle
- La concentration du LCR en protéines et en glucose
- Une formule leucocytaire et un examen du culot de centrifugation à la coloration de Gram.

En cas de PL hémorragique, il faut vérifier qu'il ne s'agit pas d'un mauvais prélèvement contenant du sang. A la numération, lorsqu'il y a environ 1 GB pour 1000 GR, on peut penser qu'il s'agit de sang. Il y a très rarement une infection, mais il peut s'agir d'une hémorragie méningée.

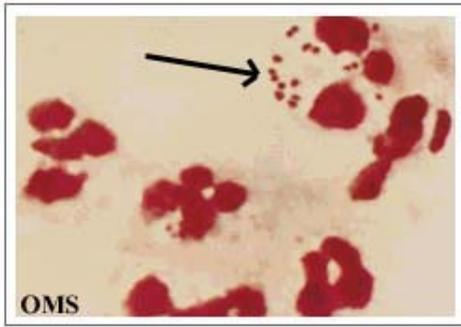
Pratiquer un prélèvement de sang veineux et recueillir un tube avec de l'EDTA et un autre sans anticoagulants, réaliser :

- Une numération des GB et une formule leucocytaire
- Une numération des plaquettes
- Une vitesse de sédimentation
- Sur le tube sec : CRP et glucose

#### Les principaux germes rencontrés sont :

- Chez le nouveau-né : *Escherichia coli*, Streptocoque B, *Listeria monocytogenes*.
- Chez l'enfant 3 mois - 3ans : *Haemophilus influenzae*, méningocoque, pneumocoque.
- Chez l'adulte : pneumocoque, méningocoque, *Listeria monocytogenes*.

On peut aussi rencontrer des méningites virales, tuberculeuses, à *Brucella*, à *Lepstospira*, à cryptocoque ... (zone d'endémie des épidémies de méningite à méningocoque).



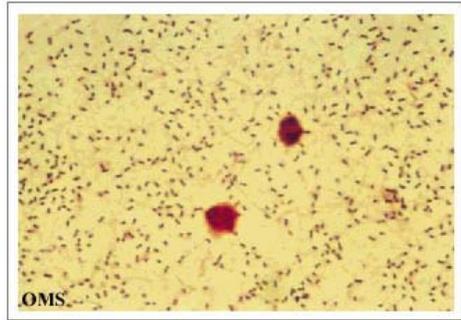
Méningocoque

### Méningites à liquide trouble :

Méningites bactériennes à pneumocoque, méningocoque et *Haemophilus influenzae*.

### Biologie sanguine :

- Hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles
- CRP élevée (4 croix).
- VS très élevée (>100 mm à la première heure).
- Éventuellement, diminution des plaquettes et du glucose.



Pneumocoque

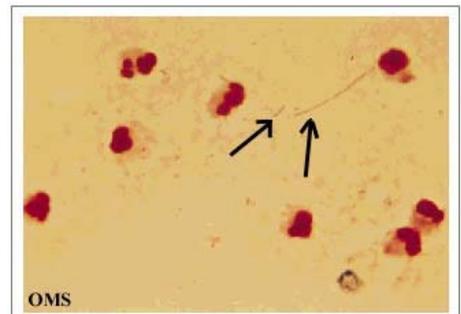
La glycémie sert surtout à déterminer les valeurs normales de la glycorachie, c'est à dire les 2/3 de la glycémie.

### Aspect du LCR :

- Trouble, éventuellement purulent
- Surnageant clair ou citrin
- Culot leucocytaire (blanc) ou érythroleucocytaire (rosé)

### Biologie du LCR :

- Hyperprotéinorachie franche : généralement > 1 g/l, fréquemment au dessus de 2.
- Hypoglycorachie.
- Hyperleucorachie : > 100 éléments/ mm<sup>3</sup>, fréquemment > 1000. Majorité de PNN.
- Présence de germes à la coloration de Gram :
  - diplocoque Gram positif : pneumocoque.
  - diplocoque Gram négatif : méningocoque
  - bacille Gram négatif : *Haemophilus influenzae*



*Haemophilus*

Note : sur un terrain alcoolique ou diabétique, les pneumocoques et *Listeria* sont fortement incriminés. Chez la femme enceinte, *Listeria* est le plus incriminé.

### Méningites à liquide clair :

Les méningites à liquide clair regroupent différentes étiologies :

- virales : 80% des méningites infectieuses, le plus souvent, les entérovirus sont responsables (ECHO, Coxsachies) ainsi que le virus des oreillons. Le plus souvent, ces méningites sont spontanément résolutive. Le gros problème reste les méningites et méningo-encéphalites à *Herpes* du nouveau-né, à mortalité très élevée, et très séquellaires pour les survivants.
- tuberculeuses
- *Listeria*
- *Leptospira* : on observe une lymphocytose et une hyperprotéinorachie. On peut identifier les leptospires sur le culot de centrifugation, soit grâce à un microscope à fond noir, soit en utilisant la coloration de Vago.

### Tableau récapitulatif : (ID = immunodépression)

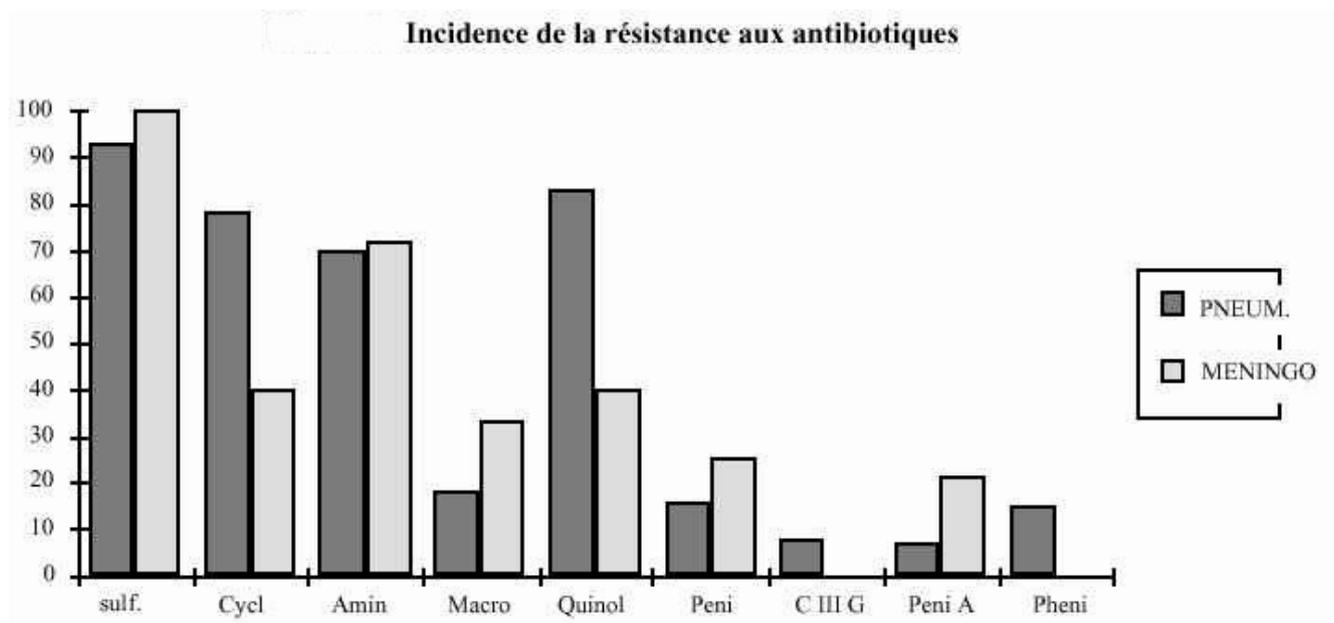
|                          | Pneumocoq.               | Méningocoq. | Haemoph. | <i>Listeria</i>   | Tuberculose | Virus       | Cryptocoq. |
|--------------------------|--------------------------|-------------|----------|-------------------|-------------|-------------|------------|
| <b>Aspect</b>            | trouble                  |             |          | clair             |             |             |            |
| <b>Culot</b>             | leucocytaire             |             |          | presque invisible |             |             |            |
| <b>GB/mm<sup>3</sup></b> | > 100, souvent > 1000    |             |          | 100-200           | 100-400     | 50-1000     | 10-100     |
| <b>Formule</b>           | PNN, souvent altérés     |             |          | PNN               | PNN, monoc. | lymphocytes |            |
| <b>Protéines</b>         | > 1 g/l, souvent > 2 g/l |             |          | +/- 1 g/l         | 0.8-1.6 g/l | 0.4-1 g/l   | < 1 g/l    |

|                       |                  |                        |           |               |            |               |                |
|-----------------------|------------------|------------------------|-----------|---------------|------------|---------------|----------------|
| <b>Glucose</b>        | très bas         |                        |           | bas           | bas        | 3.5-5         | +/- normal     |
| <b>Germes</b>         | cocci +          | cocci -                | bacille - | bacille +     | BAAR, rare | /             | levures        |
| <b>Coloration</b>     | Gram             |                        |           |               | Ziehl      | /             | encre de Chine |
| <b>Particularités</b> | très séquellaire | épidémies saisonnières | enfant    | ID, grossesse | insidieux  | souvent bénin | ID             |

Attention aux méningites bactériennes (type pneumo ou méningocoque) dites "décapitées" par un début de traitement antibiotique. On observe alors une biologie du LCR proche de celle de la méningite à *Listeria*. Les bacilles tuberculeux sont rarement mis en évidence. Cependant, avec les arguments cliniques, l'hyperleucorachie (PNN et monocytes-macrophages) associée à une hyperprotéinorachie, on peut penser à la tuberculose. On conservera un peu de LCR pour l'envoyer pour confirmation dans un centre médical pratiquant la culture de la tuberculose.

**Traitement** : Bien surveiller la glycémie des malades, elle peut être excessivement basse, surtout chez l'enfant. Une hypoglycémie prolongée peut laisser beaucoup de séquelles.

- Méningite tuberculeuse : se reporter à la tuberculose
- Méningite purulente : ampicilline (20 mg/Kg/j) ou chloramphénicol en solution huileuse (1 g chez le nourrisson, 3 g si > 15 ans), à renouveler 48 heures après. Le chloramphénicol est très efficace et très peu cher, il doit donc être privilégié (malgré les risques d'agranulocytose). Dans le cas d'un pneumocoque, on peut utiliser l'association Pénicilline G et Gentamycine.
- Méningite à cryptocoque : se reporter à la cryptococcose.
- Méningite virale : traitement symptomatique.



## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION URINAIRE

**But :**

Affirmer ou infirmer le diagnostic d'infection urinaire et guider le choix d'un traitement antibiotique. Cet examen est à réserver en priorité aux infections résistantes, aux infections à répétition ou aux infections urinaires de l'enfant.

**Signes cliniques :**

- Chez la femme : brûlures mictionnelles (cystite)
- Chez l'homme, si l'on exclue les urétrites, les cystites sont rares, il s'agit plutôt de problèmes prostatiques.

L'infection urinaire peut se compliquer en pyélonéphrite avec fièvre et douleurs lombaires.

### Prélèvement et analyses :

Pratiquer un prélèvement d'urine, noter son aspect (claire, sombre, hématurique, limpide, trouble, citrine, orangée ...) puis réaliser :

- Une analyse par bandelette urinaire ou un dosage des protéines.
- Sur l'urine pure, une numération des leucocytes et des hématies.
- Centrifuger l'urine dans un tube conique puis étudier le culot urinaire après avoir noté son aspect et l'aspect du surnageant.

### Urine normale :

- Une urine normale est jaune clair et limpide.
- Dans une urine normale, on trouve un nombre de GB ou de GR  $< 10/\text{mm}^3$  (ou 10 000 /ml), les GB ne sont pas altérés. Il y a aussi quelques rares cellules épithéliales.
- On n'observe pas de germes à l'examen entre lame et lamelle. Même si une urine n'est jamais stérile, il faut un nombre de germe  $> 10^5$  pour pouvoir les observer.

### Conclusions :

On conclue à une infection urinaire si on observe un nombre de GB  $> 25/\text{mm}^3$ . Il n'y a pas besoin de voir des germes pour arriver à cette conclusion.

Ainsi, la présence de germes sans GB évoquera plutôt un mauvais prélèvement (premier jet) qu'une infection urinaire, bien que ce soit le cas en cas de tuberculose urinaire ou d'infection urinaire décapitée.

Dans ce cas, on renouvellera donc le prélèvement.

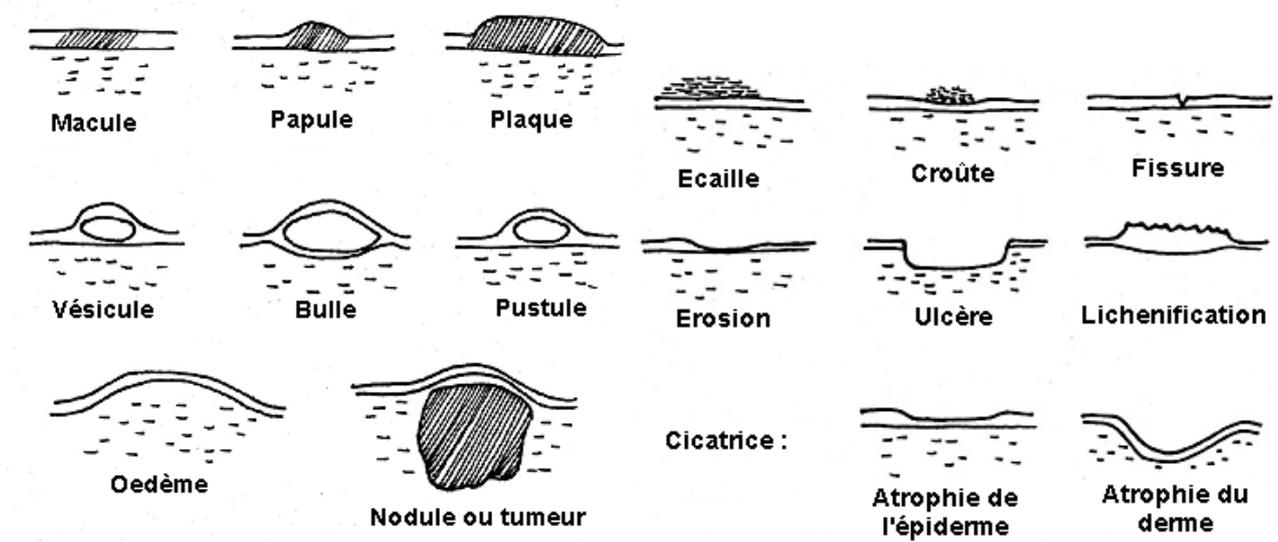
On ne pourra pas, sans culture, déterminer quel est (sont) le(s) germe(s) en cause. Cependant, le Gram et la morphologie de l'espèce **dominante** pourront toujours être une indication pour le praticien. S'il y a plus de 3 germes en quantité comparable, refaire le prélèvement.

En règle générale :

- 80 % des infections sont dues à *Escherichia coli*
- 10 % sont dues à des *Proteus* (très mobiles)
- 10 % restant sont dues à des *Klebsiella*, entérocoque, staphylocoques, éventuellement BK.

## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION CUTANÉE

### Rappels sur les principales lésions cutanées :



### Prélèvements et colorations :

L'avis du clinicien oriente fréquemment l'investigation biologique, il demandera une recherche de telle ou telle pathologie. En cas de doute ou de signes pauci-symptomatiques, le laboratoire prend tout son intérêt, on peut :

- Se référer à l'orientation clinique
- Pratiquer différents prélèvements cutanés :
  - prélèvement de plaie puis coloration MGG, Gram et Ziehl.
  - prélèvement à visée mycologique puis coloration au bleu de lactophénol et Ziehl.
  - prélèvement de nez puis coloration de Ziehl.

#### **Orientation de la recherche grâce aux principaux signes cliniques :**

**Ulcération** (croûteuse ou non) : leishmaniose cutanée, mycobactériose atypique, ecthyma, charbon, ...

**Cordon cutané migrateur** : larbish (ankylostomose animale), larva currens (anguillulose) ...

#### **Exanthèmes :**

- allergie médicamenteuse (rash, érythème pigmenté fixe, érythème polymorphe, ...)
- exanthème maculeux ou maculo-papuleux : syphilis secondaire, trypanosomiase africaine,
- exanthème localisé : infection bactérienne à pyogènes.

#### **Oedème :**

- facial : trichinose,...
- d'un membre: loase, filariose lymphatique, phlegmon bactérien, ...

#### **Lymphangite :**

- nodulaire : leishmaniose cutanée, sporotrichose;
- centripète : infection bactérienne à germes pyogènes, à Mycobactères (M. marinum);
- centrifuge : filariose lymphatique en poussée aiguë

#### **Lésions papulo-nodulaires :**

- furoncle : staphylocoque
- lésion furonculoïde : trypanosomiase africaine, leishmaniose cutanée, tungose, myiase ...
- piqûre d'insecte, molluscum, histoplasiose ...

#### **Lésions érythémato-squameuses :**

- épidermomycoses : pityriasis versicolor, herpès circiné, trichophytie, pied d'athlète ...
- psoriasis
- syphilides palmo-plantaires ...

#### **Ulcérations** (à l'exclusion des ulcérations génitales, traitées dans les MST) :

- plante des pieds :
  - creusantes : lèpre, mal perforant diabétique, tabes
  - dans une masse indurée, multiples ulcérations : mycétomes
- jambes :
  - évolution furonculoïde : dracunculose
  - évolution tumorale : syphilis tertiaire, mycétomes
  - avec crise douloureuse : drépanocytose
  - non spécifique : ulcère bactérien
- reste du corps :
  - mycétomes
  - syphilis tertiaire
  - non spécifique : ulcère bactérien

- aires spécifiques :
  - parties découvertes : leishmaniose cutanée
  - aire ganglionnaire : tuberculose ganglionnaire

**Tuméfactions cutanées** (masse dermique recouverte par un épiderme sain) :

- inflammatoire : érythème noueux, furoncles, anthrax, myases débutantes...
- non inflammatoire et mou : lipomes, kystes sébacés, fibrome, angiome ...
- non inflammatoire et ferme : leishmaniose, lèpre atypique, mycobactérioses, sarcoïdose ...
- non inflammatoire et dur : mycétomes débutants, syphilis, pian, Kaposi

**Lésions vésiculo-bulleuses** : impétigo ( $\pm$  croûteux), prurigo, gale

**Miliaire sudoripare** : bourbouille (souvent dans les plis, sous les bras)

**Prurit cutané** (non muqueux) :

- parasitoses, si prurit majeur, penser à l'onchocercose, sinon ectoparasites, gale, teignes ...
- ictère, hémolyse
- intolérance médicamenteuse (antibiotiques, antimalariques, ...).

## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION ORL ET RESPIRATOIRE

Nous décrivons un mode opératoire valable pour les différentes infections ORL et respiratoires : angine, otite, bronchite, pneumonie ...

Procéder à un prélèvement : gorge, crachat, oreille, expectorations provoquées ...

Dans le cas d'une infection respiratoire, le meilleur prélèvement reste l'expectoration provoquée "dirigée" avec respiration provoquée et kinésithérapie ad hoc de la zone suspecte. Il est conseillé de rincer la bouche et la gorge avec un antiseptique ou du bleu de méthylène afin d'éliminer au maximum la flore saprophyte buccale pouvant contaminer le prélèvement.

Dans tous les cas, on réalise un étalement du prélèvement sur deux lames, une pour un examen direct entre lame et lamelle et l'autre pour réaliser une coloration de Gram.

On note :

- Les polynucléaires associés, leur nombre, leur altération éventuelle
- Les germes rencontrés, leur nombre, leur forme (bacille, cocci, capsule éventuelle), leur mobilité, leur Gram ...

Les germes les plus fréquemment rencontrés dans une infection respiratoire sont le pneumocoque (diplocoque Gram positif capsulé) et l'*Haemophilus* (bacille Gram négatif). Se reporter à l'examen direct bactériologique pour les différentes morphologies

Dans tous les cas, un polymicrobisme n'apporte rien. On peut conclure à une pathologie lorsqu'un des germes représente plus de 80% des germes rencontrés.

Ne pas oublier qu'un examen négatif ne permet pas de conclure non plus. Il faut répéter l'examen plusieurs fois ou mettre en culture le prélèvement.

## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION GENERALISEE

Les infections généralisées sont soit des bactériémies, quelque fois transitoires et jugulées par le système immunitaire soit des septicémies véritables, urgence médicale.

Il est très difficile de confirmer une telle infection dans un laboratoire de petite taille.

Il faut procéder à une hémoculture grâce à un flacon spécial et assez onéreux (environ 3 euro pour un seul flacon) mais qui a souvent l'avantage de pouvoir être conservé à température ambiante. Généralement, on utilise deux flacons à hémoculture : un pour les bactéries aérobies, un pour les bactéries anaérobies. Ce deuxième flacon peut être laissé de côté dans un premier temps.

Pratiquer un prélèvement de sang veineux de manière stérile. Désinfecter la pastille en caoutchouc du flacon à hémoculture avec de l'alcool à 70° puis injecter stérilement, près du bec-Bunsen, la quantité de sang nécessaire (généralement 5 à 10 ml) dans le flacon.

On le laisse soit sur la paillasse lorsque la température extérieure est élevée, soit en haut du réfrigérateur pour profiter de la source de chaleur des résistances, soit on utilise une petite étuve "maison".

Ensuite, lorsqu'un trouble apparaît dans le flacon, il faut le repiquer sur des milieux standards (BCP, gélose chocolat, Chapman ...) et réaliser un examen direct avant et après coloration de Gram. Dès l'apparition d'un trouble, une antibiothérapie probabiliste à large spectre, généralement injectable, peut être mise en place, si cela n'a pas été fait avant.

Attention : la coloration de Gram de bactéries provenant d'un flacon d'hémoculture est très souvent trompeuse : les Gram négatifs peuvent être vus positifs et inversement. On utilisera donc en priorité la morphologie, plus que le Gram.

## DIAGNOSTIC D'UNE MST

Plus de 300 millions de cas de MST surviennent chaque année dans le monde ...

Quelques chiffres de dépistage des MST et du SIDA effectué sur une cohorte de 103 prostituées à Bamako (Mali) en 1997. effectuée sur une cohorte de 103 prostituées à Bamako (Mali) en **1997** (F.S. DIABATE DIALLO, O. FOFANA SANGARE, M. TRAORE, A. DOLO)

103 prostituées :

- 45 femmes HIV + soit 43.7 %
- 78 femmes syphilis + soit 75.7 %
- 49 femmes gono + soit 47.6 %

**Tableau V : Sérologie syphilis en fonction de la sérologie VIH**

| VIH \ Syphilis | Positif | Négatif | Total |
|----------------|---------|---------|-------|
|                | Positif | 29      | 49    |
| Négatif        | 16      | 9       | 25    |
| Total          | 45      | 58      | 103   |

### Étiologies des MST rencontrées (hors SIDA et syphilis)

On a :

- 48 femmes infectées avec un seul microorganisme
- 20 femmes infectées avec 2 microorganismes
- 6 femmes infectées avec 3 ou plus de 3 microorganismes
- 29 femmes non infectées

| Germes isolés   | Effectif | Fréquence |
|---|----------|-----------|
| Neisseria gonorrhoeae   | 25       | 24,3%     |
| Candida albicans  | 12       | 11,7%     |
| Gardnerella vaginalis   | 10       | 9,7%      |
| Trichomonas vaginalis   | 01       | 1%        |
| N. Gonorrhoeae + G. Vaginalis                                   | 12       | 11,7%     |
| N. Gonorrhoeae + C. Albicans                                    | 04       | 3,9%      |
| Tricho vaginalis +<br>G. Vaginalis + C. Albicans                | 01       | 1%        |
| Gard vaginalis + C. albicans +<br>T. vaginalis + N. Gonorrhoeae | 03       | 2,9%      |
| Neisseria gonorrhoeae +<br>Trichomonas vaginalis                | 03       | 2,9%      |
| Gardnerella vaginalis + C. Albicans                             | 01       | 1%        |
| N. Gono + Trichomonas vaginalis +<br>G. Vaginalis               | 02       | 2%        |
| Négatif   | 29       | 28,2%     |
| Total   | 103      | 100%      |

### Diagnostic d'une donovanose

Maladie vénérienne tropicale (Océanie, Viêt-Nam, Inde, Afrique centrale, Caraïbes, Brésil ...) due à une bactérie non cultivable : *Calymmatobacterium granulomatis*. Il n'y a pas de prophylaxie spécifique.

**Clinique** : incubation d'une semaine à trois mois après les rapports sexuels

Apparition, à 90% au niveau de la sphère génitale (pénis, vulve, périnée), de plusieurs papules indurées, indolores, évoluant vers une forme nodulaire puis granulomateuse à bord nets, très rouge (beefsteak), et sans infiltration de la peau alentours. Pas d'adénopathies.

La lésion s'agrandit par la suite, pouvant donner naissance à des ulcères d'une quinzaine de cm de diamètre, très souvent surinfectés et provoquant une adénopathie qui peut s'abcéder et s'ouvrir à la peau. Ces ulcères sont très mutilants, une transformation cancéreuse est possible.

#### Diagnostic biologique :

Réaliser un prélèvement de granulome et colorer les lames. Observer à l'objectif 100.

A l'examen des lames colorées au MGG, les corps de Donovan (les bactéries) apparaissent à l'intérieur des macrophages, colorées en bleu. La coloration de Gram est moins sensible

La recherche est souvent négative en cas de lésion très jeune ou, au contraire, ancienne. Il faut donc recommencer le prélèvement.

L'observation des corps de Donovan à partir d'une lésion à clinique évocatrice est suffisante pour affirmer le diagnostic.

#### Traitement :

Cotrimoxazole 480 mg, 4 comprimés par jour en deux fois pendant 15 jours ou Tétracycline : 2 grammes par jour per os en quatre fois pendant 15 jours.

Le traitement le moins cher consiste en l'administration de Thiamphénicol par voie orale : 2.5 g le premier jour puis 1 g/jour pendant 15 jours.

On observe la cicatrisation en 3 à 5 semaines. Il faut ensuite suivre le patient pendant 6 mois pour observer l'absence de récurrence.

### Diagnostic du chancre mou

Maladie vénérienne ubiquitaire, mais touchant essentiellement les zones tropicales (Afrique, spécialement de l'Est, Amérique du Sud, Indes et Asie du Sud-est) et due à une bactérie coccobacillaire : *Haemophilus ducreyi*.

**Clinique** : incubation de 3 à 7 jours.

Transmission uniquement sexuelle, pathologie très contagieuse.

la lésion initiale est une petite papule, se transformant en papule qui s'ulcère très vite, se creuse en profondeur et mesure vite 2 cm de diamètre, les bords sont nets, la base du chancre est souple (contrairement à la syphilis) et souvent recouverte d'un pus jaunâtre de surinfection. C'est une lésion très douloureuse, surtout chez l'homme. On peut retrouver plusieurs chancres de différente taille (autoinfestation) Le chancre est surtout situé chez l'homme sur le prépuce, dans la région du frein ou du sillon. Chez la femme, il se situe préférentiellement sur les petites lèvres, les grandes lèvres, le méat urinaire ou le clitoris. Un chancre anal est souvent associé.

Au bout de deux semaines, une adénopathie inguinale unilatérale apparaît dans un cas sur deux, grossit (4-5 cm) et se fistulise éventuellement. Un pus presque toujours dépourvu de bacilles est évacué.

Sans traitement, le chancre peut causer de nombreux dégâts : rupture du frein, fistule urétrale ou anale, perte du gland, surinfections par des bactéries anaérobies, nécroses tissulaires...

#### **Diagnostic biologique :**

Réaliser un prélèvement de chancre mou et colorer les lames.

A l'examen des lames colorées au MGG, les coccobacilles apparaissent colorées en bleu, avec une coloration bipolaire typique (aspect d'épingle à nourrice).

A la coloration de Gram, on observe un coccobacille Gram négatif à coloration bipolaire. La culture est possible mais nécessite des milieux spéciaux additionnés des facteurs V et X. Cette culture sort du domaine de ce guide.

#### **Traitement :**

- Local : auréomycine pommade sous un pansement pour le chancre et pour d'éventuelles fistulisations.
- Général : il existe beaucoup de résistances à *H. ducreyi* (pénicillines et tétracyclines entre autre). On préconise du cotrimoxazole à forte dose pendant 10 jours ou encore, si possible, de l'azithromycine unidose (actif aussi contre la syphilis et les chlamydiae). Chez la femme enceinte : érythromycine 2 g/j pendant 7 jours.

L'ulcère cicatrise en 10-12 jours et l'adénopathie en 3 semaines. Ne pas hésiter à ponctionner par aspiration un ganglion sur le point de se fistuliser.

En cas d'infection par le VIH, la cicatrisation est beaucoup plus lente, le traitement doit durer jusqu'à la cicatrisation totale du chancre.

#### **Diagnostic d'une MST virale**

- **Herpès :**  
Diagnostic clinique sur l'aspect caractéristique des vésicules groupées en "bouquet". Possibilités de réaliser des frottis en grattant les lésions avec une curette. On colore au Giemsa et on recherche des cellules syncytiales géantes contenant des inclusions cytoplasmiques acidophiles et des amas nucléaires basophiles, correspondants à l'accumulation de matériel viral. Deux populations à risque : les nouveaux-nés nés de mère en primo-infection (méningo-encéphalite herpétique) et les immunodéprimés (herpes cutanéomuqueux du SIDA). Traitement local avec de l'aciclovir crème, 5 fois par jour pendant 5 jours. Traitement général avec de l'aciclovir.
- **Papillomavirus :**  
tumeurs épithéliales bénignes contagieuses, appelées aussi végétations vénériennes, condylomes acuminés = crêtes de coq, condylomes plats ... Diagnostic clinique, destruction des lésions infectées Attention, certains virus transformants, sont responsables de néoplasies du col à fort potentiel invasif vers le carcinome du col.
- **Molluscum contagiosum (poxvirus) :**  
Papules de 2 à 5 mm se développant sur la verge, la vulve, le pubis ou même les cuisses. On trouve entre 1 et 10 papules. Diagnostic clinique. Chaque papule est extirpée à la curette et cautérisée à la teinture d'iode.
- **Hépatite B**
- **Cytomégalovirus**

#### **DIAGNOSTIC D'UNE TREPONEMATOSE**

## Diagnostic de la syphilis :

Maladie de répartition mondiale, causée chez l'homme par *Treponema pallidum pallidum*. Contamination lors de rapports sexuels, de la mère à l'enfant et exceptionnellement par transfusion.



*Syphilis primaire : chancre syphilitique*



*Syphilis secondaire : syphilides*

**Clinique :** incubation de trois semaines en moyenne

- Syphilis primaire : chancre syphilitique de localisation presque toujours génitale (parfois buccale ou autre), plus difficile à mettre en évidence chez la femme. Le chancre est indolore, ferme et dur. Il est fréquemment surinfecté.
- Latence 1 : entre un mois et un an après le chancre
- Syphilis secondaire : peut paraître inaperçue. Roséole syphilitique (macules), syphilides (lésions cutanées de 1mm à 1 cm, isolées ou groupées, grises sur peau noire, ces lésions peuvent se fissurer sur la face), plaques muqueuses (buccales, nasales, pendant 2-3 semaines, très contagieuses), alopecie en plaques dispersées. Fin de la période de transmission sexuelle.
- Latence 2 : entre 2 et 20 ans, période très courte chez le sujet VIH positif.
- Syphilis tertiaire : lésions cutané-muqueuses nodulaires, lésions osseuses, lésions cardio-vasculaires (anévrisme aortique, coronarite oblitérative, valvulopathies), lésions neurologiques (perte de mémoire, dégradation de l'intellect, modifications de la personnalité, tabès : paralysie générale).

## Syphilis et grossesse :

Lors de la contraction de la syphilis et sans traitement, une femme reste contagieuse pendant 5-6 ans après le début de l'infection. En cas de grossesse pendant cette période, on aura environ :

- 40 % : nouveau-né non infecté
- 20 % : syphilis congénitale précoce ou tardive
- 20 % : mort rapide de l'enfant
- 10 % : enfant mort-né
- 10 % : avortement avant le terme

La recherche de la syphilis fait partie des examens de routine des consultations prénatales.

## Diagnostic biologique :

Diagnostic direct :

Toute ulcération génitale doit être examinée au microscope, on procède donc à l'examen direct du chancre. Réaliser un prélèvement de chancre syphilitique puis observez au microscope. On observe des micro-organismes de 10-15 µm dont la forme hélicoïdale (une quinzaine de spirales) et la mobilité (dans un seul sens, en vrille ou ondulations) permettent de porter le diagnostic. Un résultat négatif n'élimine pas la possibilité de syphilis. Il est aussi possible de trouver des tréponèmes dans les lésions cutanées et cutanéomuqueuses de la phase secondaire.

Diagnostic indirect : sérologie : il s'agit de réactifs à acheter à des laboratoires et à conserver au frais. Il est impossible d'en fabriquer soi-même.

Test RPR (Rapid Plasma Reagin) : test peu spécifique, mais assez sensible, positif 15 à 20 jours après le début du chancre. Ce test utilise un antigène cardiolipidique fixé sur des particules de charbon. On dépose 50 µl de sérum et 50 µl de suspension antigénique sur une carte blanche, on agite manuellement pendant 8 minutes et on observe ou non l'apparition d'une agglutination. Certains laboratoires possèdent un agitateur à cartes qui peut avantageusement remplacer le bras pendant 8 minutes...

Test TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay) : test semi quantitatif plus spécifique, mais moins sensible, positif 12 jours après le début du chancre. Ce test utilise des globules rouges de mouton sensibilisés par des Ag anti-tréponémiques spécifiques. Ce test est généralement réalisé en microplaques à fond rond. La lecture est moins rapide que le RPR. Les résultats sont rendus en inverse de la dernière dilution du sérum qui provoque l'inhibition de l'agglutination.

| Stade                                     | Tests à effectuer        |
|---|--------------------------|
| Syphilis primaire ou secondaire           | Examen direct, RPR, TPHA |
| Syphilis latente (latence 2) ou tertiaire | TPHA                     |
| Syphilis congénitale                      | Examen direct, TPHA      |
| Consultation prénatale                    | RPR et TPHA              |
| Étude épidémiologique                     | TPHA (positifs > 1/80)   |

#### Traitement :

Pénicillines retard injectables : benzathine pénicilline G :

- S. primaire : 1 injection IM de 2.4 M d'unités
- S. secondaire : 1 injection IM de 2.4 M d'unités par semaine pendant 3 semaines
- S. tertiaire : 1 injection IV de 2 M d'unités toutes les quatre heures pendant 10 jours suivi par 3 semaines du même traitement que la syphilis secondaire.
- Femme enceinte : traitement en fonction du stade de la maladie.
- S. congénitale : 1 injection IV de 250 000 unités toutes les douze heures pendant 10 jours

#### Diagnostic des autres tréponématoses :

Les autres tréponématoses sont :



- Treponema pallidum pertenuae, agent du pian (yaws en anglais), de l'Afrique à l'Océanie en passant par l'Asie centrale et du sud-est.
- Treponema pallidum endemicum, agent du Bejel, Afrique noire, Maghreb et jusqu'en Afghanistan.

Treponema pallidum carateum, agent de la Pinta (Amérique centrale et Amérique du sud) quasiment disparu.

Ce sont des tréponématoses cutanéomuqueuses **non vénériennes non congénitales**. La contamination a lieu par contact direct avec les zones lésées.

Ces tréponématoses sévissent uniquement dans les régions intertropicales. de gros programmes de lutte contre ces maladies ont eu lieu entre les années 50 et 80 (pénicillinothérapie), cependant, la reprise des anciens foyers est signalée, spécialement en Afrique noire (RCA, Congo, Gabon, Cameroun, ex-Zaïre ...)

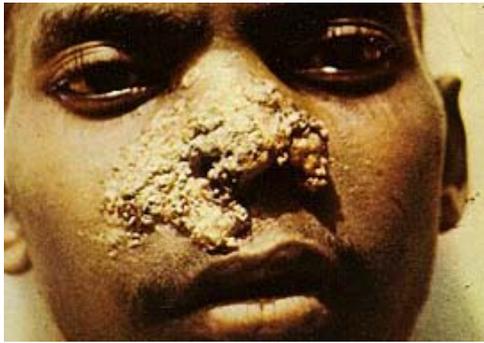


Il est à l'heure actuelle impossible de différencier ces espèces entre elles, ni même de les distinguer de l'agent de la syphilis. Le pian est la principale des trois pathologies, les deux autres ne seront qu'abordées en fin de chapitre.

#### LE PIAN

**Clinique** : incubation 2-4 semaines

Chancre pianique : durée 3-6 mois, parfois inaperçu.  
Lésion initiale, très contagieuse, généralement sur les parties



*Pian secondaire de l'enfant  
Pian tardif de la face et pianome du nez*

découvertes, composé d'un pianome central entouré par une petite couronne de pianome satellites. Cicatrisation spontanée puis migration des tréponèmes par voie sanguine.

Phase secondaire : 3 types de lésions :

- Pianomes :

Lésions cutanées en forme de framboise caractéristique, sur tout le corps, de quelques mm à 2 cm de diamètre, souvent recouverts d'une croûte. Très contagieux, souvent surinfecté.

- Pianides :

Lésions cutanées sèches, très polymorphes et disséminées, comparables aux manifestations de syphilis secondaire.

Lésions pauvres en tréponèmes. Pianides et pianomes peuvent coexister chez un même malade.

- Lésions osseuses hypertrophiantes :

phalanges : déformation en "navet", doigts, tibia, nez ...

Phase tardive : entre 2 mois et 15 ans après la phase secondaire, proche des lésions syphilitiques.

Rhinopharyngite ulcéreuse et mutilante aboutissant à la destruction de la face, périostites, ostéites... pas de problèmes neurologiques et neuropsychiatrique.

#### **Diagnostic biologique :**

Examen direct :

Pratiquer un prélèvement de chancre pianique.

Même résultat que pour la syphilis.

Diagnostic sérologique :

Les sérologies syphilitiques RPR et TPHA sont positives lors d'une infection pianique, voir plus haut

**Traitement** : identique pour les formes récentes, tardives et latentes.

Benzathine-pénicilline G par IM :

0-2 ans : 0.3 MU

2-10 ans : 0.6 MU

> 10 ans : 1.2 MU

#### **Procédure de prophylaxie de l'OMS :**

- Zone d'hyperendémie (prévalence > 10 %) :  
Traitement de Masse Total (TMT).
- Zone de méso-endémie (prévalence entre 5 et 10 %) :  
Traitement de Masse Juvénile (TMJ) : traitement de toutes les personnes < 10 ans (en plus des malades et de leur famille)
- Zone d'hypo-endémie (prévalence < 5%)  
Traitement de Masse Sélectif (TMS) : traitement de tous les malades et leurs contacts (famille et autres).

#### **Le Bejel :**

Lésions moins fortes que le pian. La plus fréquente est la plaque muqueuse buccale, sur la face interne des lèvres et des joues. Lésions arrondies (1 cm) blanchâtres, saignant au contact. Près de la commissure des lèvres, peut ressembler à une poussée d'herpès.

On peut observer des pianomes, mais en petit nombre. Des condylomes peuvent être retrouvés dans les zones de pli.

Les ostéopériostites des os longs sont plus fréquentes que pour le pian. Elle provoquent des douleurs nocturnes caractéristiques.

Même diagnostic que pour le pian (pianomes) ou en prélevant des plaques muqueuses buccales.

#### **La Pinta :**

Manifestations uniquement externes, et touchant essentiellement les enfants.

La lésion primaire est une papule érythémateuse évoluant vers une pustule, généralement sur les zones découvertes.

Les lésions secondaires s'installent au bout d plusieurs mois sous forme de plaques érythémateuses, les "pintides", indolores, allant du gris au rouge.

Dans la période tardive, les lésions deviennent achromiques, laissant les marques indélébiles et typiques de la Pinta.

Même diagnostic que pour la syphilis (sérologies et examen direct de la papule ou des plaques).

## DIAGNOSTIC D'UNE GONOCOCCIE

MST provoquée par *Neisseria gonorrhoeae* ou gonocoque. La forme clinique principale est une urétrite aiguë, provoquant un écoulement urétral douloureux, d'où les noms de "chaude-pisse" et "blennorragie". Maladie de répartition mondiale, mais qui touche plus particulièrement les pays en développement, et chez qui les séquelles (complications loco-régionales, localisation extragénitale, ophtalmie néonatale ...) sont plus fréquentes.

**Clinique** : incubation 2-7 jours.

- **Chez l'homme** :

Urétrite gonococcique : manifestation la plus fréquente (5% asymptomatique), écoulement urétral jaune purulent, crémeux, abondant, surtout le matin avant d'uriner. Mictions douloureuses, pollakiurie, possibilité de dysurie (extension de l'infection)

Complications locorégionales : infections des glandes de Littre (on retrouve des filaments de pus en suspension dans les urines), rétrécissement urétral (douleurs à l'érection), diffusion de l'infection : corps caverneux, abcès, fistulisation de l'urètre, rétention urinaire, prostatite, épидидymite, inflammation des vésicules séminales ...

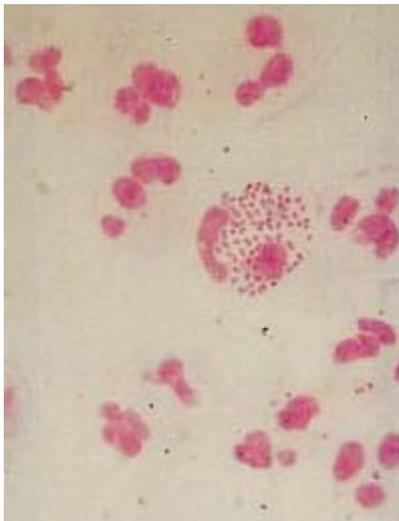
- **Chez la femme** : plus de complications chez la femme

Infection primaire : Asymptomatique dans 50 % des cas. Brûlures mictionnelles peu intenses et transitoires, envie fréquente d'uriner (cystite). Le col est infecté dans 90 % des cas, et l'urètre dans 70 %. Une goutte de pus peut se trouver à l'entrée de l'urètre ou à celle des glandes de Bartholin. Sans traitement, peut évoluer vers une guérison ou vers une forme latente (réservoir).

Complications : Bartholinite très douloureuse, surinfection bactérienne, salpingite pouvant découler vers une péritonite.

Localisations extragénitales : anorectite à gonocoque (ténésmes, irritation anale, écoulement, mucopurulent ou sanguinolent), conjonctivite à gonocoque, oropharyngite, forme disséminée.

Transmission de l'ophtalmie du nouveau-né.



### Diagnostic biologique :

S'il y a peu d'écoulement, pratiquer un prélèvement urétral chez l'homme, ou vaginal chez la femme (orifice de l'urètre, endocol et cul de sac vaginal). Il est conseillé de pratiquer aussi un prélèvement péréal chez la femme.

Étaler l'écoulement sur plusieurs lames, colorer au Gram, ou à défaut au bleu de méthylène.

On observe une leucorrhée purulente, épaisse et colorée. Présence de très nombreux polynucléaires. Après coloration de Gram, on retrouve des diplocoques Gram négatif intra et extra cellulaires très évocateurs de *Neisseria gonorrhoeae*. Seulement 10 % des polynucléaires contiennent des bactéries, mais en grand nombre (2-30).

*Diplocoques Gram négatif intra et extra cellulaires* : présence de *Neisseria gonorrhoeae*

L'examen direct est plus sensible chez l'homme (95%) que chez la femme (50%) par rapport à la culture. Chez la femme, il faudra donc répéter l'examen.

### Traitement :

Il y a maintenant beaucoup de souches productrices de bêta-lactamases, on conseille donc soit :

- infection aiguë : traitement minute : 2.5 g de thiamphénicol per os ou 2 g de spectinomycine IM
- complication : traitement minute + 1.5 g/j de tétracycline per os pendant 10 jours.
- gonococcémie : ceftriaxone 1 g/j pendant 7 jours.

**Prévalence de l'infection gonococcique chez des femmes enceintes** (accouchements, consultations prénatales) :

\* = technique de laboratoire non précisée

| Pays         | Site<br>Lieu   | Date    | Eff.<br>indiv. | Taux<br>préval. |
|--------------|----------------|---------|----------------|-----------------|
| Afrique Sud  | Cape Town      | 1972/73 | 1.276          | 5,3             |
|              | Johannesburg   | 1978    | x              | 10,2*           |
|              | Bloemfontain   | 1981    | 1.200          | 11,4            |
|              | Durban         | p.1981  | 307            | 10              |
|              | Empangeni      | 1987    | 193            | 5,7             |
| Cameroun     | Yaoundé        | 1977    | 296            | 14              |
|              | Yaoundé        | p.1980  | 1.058          | 13,9            |
| Centrafrique | Bangui         | 1979    | 63             | 9,5             |
| Gabon        | Franceville    | 1981    | 530            | 5,5             |
| Gambie       | Bakau          | 1982    | 100            | 6,7             |
| Ghana        | Accra          | p.1985  | 148            | 3,4             |
| Kenya        | Nairobi        | 1984    | 1.013          | 4,6             |
|              | Nairobi        | 1988    | 1.507          | 6,7             |
|              | Nairobi        | 1986/89 | 304            | 5,9             |
|              | rural n.p.     | 1988/89 | 549            | 2,9             |
|              | Nairobi        | 1989    | 163            | 6,5             |
|              |                | 1990    | 249            | 7,2             |
|              |                | 1991    | 168            | 7,1             |
| Nigéria      | Ibadan         | 1971    | 201            | 3,4             |
|              | Lagos          | 1983    | 100            | 2               |
| Sénégal      | Pikine         | 1979/80 | 236            | 2,1             |
|              | Pikine         | 1987    | 200            | 1,5             |
|              | rural n.p.     | p.1978  | 497            | 2               |
|              | réseau-sentin. | p.1990  | 294            | 0,8             |
|              | 5 villes II    | 1989/91 | 621            | 1,6             |
| Swaziland    | Manzini        | 1978    | 51             | 3,9             |
| Zaire        | Katana         | 1985    | 208            | 2,4             |
|              | Kinshasa       | p.1991  | 1.857          | 1,4             |
| Zambie       | Lusaka         | p.1980  | 163            | 11,7            |
| Zimbabwe     | Salisbury      | p.1977  | 50             | 2               |
|              | Harare         | p.1986  | x              | 9,7*            |
|              | Harare         | p.1989  | x              | 7*              |

## LES INFECTIONS A CHLAMYDIA ET MYCOPLASMA

### Les infection à Chlamydia :

Il n'existe pas de moyen simple pour diagnostiquer de manière fiable une infection à *Chlamydia*. En cas d'absence d'autre cause évidente et lors d'un col hémorragique spontanément lors du prélèvement, la présence de *Chlamydia* est très fortement suspectée.

Le seul moyen "abordable" de diagnostic est l'immunofluorescence directe, il faut cependant posséder un microscope à fluorescence onéreux. Ce genre de matériel ne trouve sa place que dans un laboratoire spécialisé en vénérologie.

### Les infections à Mycoplasma

Même problème que pour les *Chlamydia*. Nécessité de milieux de culture complexes et chers (une petite boîte de Pétri de milieu de culture pour *Mycoplasma* coûte entre 8 et 10 FF) et d'un microscope inversé. En cas de très forte suspicion et après avoir éliminé les autres causes possibles, envoyer le patient dans un centre de plus grande importance.

## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION VAGINALE

### Introduction :

Une vaginite est une inflammation de la muqueuse vaginale, d'origine infectieuse, caractérisée par deux signes cliniques principaux :

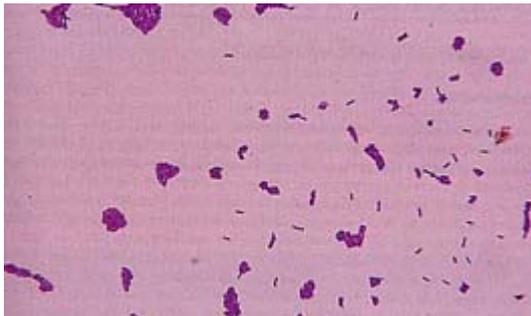
- Leucorrhées
- Irritation vulvo-vaginale

Pour rechercher l'étiologie de l'infection, procéder à un prélèvement vaginal, puis

- Noter l'aspect, la quantité, la couleur et l'odeur des pertes. Noter aussi la présence associée de dysurie, de brûlures mictionnelles, de prurit vulvaire, de douleurs vulvo-vaginales... Noter aussi la date des premiers symptômes (parfois longtemps avant la consultation).
- Réaliser un examen direct entre lame et lamelle ainsi que 3 étalements sur lame. L'examen direct doit être observé dans les 20 minutes qui suivent le prélèvement.
- Colorer une lame au Giemsa et une autre au Gram. La dernière est gardée en réserve.
- Mesurer le pH vaginal sur la muqueuse de la paroi vaginale et réaliser un test à la potasse.

### Origine des leucorrhées chez une femme adulte non ménopausée :

- Physiologique : puberté, congestion prémenstruelle, activité sexuelle, grossesse
- Pathologique infectieuse : origine cervicale (gonococcie, Chlamydiae, Herpes) ou origine vaginale (*Candida*, *Trichomonas*, *Gardnerella* ...)
- Pathologique non infectieuse : Corps étranger, vaginite en réaction à des antiseptiques, cancer ou polypes du col.



Un bon prélèvement permet de noter l'origine cervicale ou vaginale des pertes

#### Flore vaginale normale :

La flore vaginale normale contient des polynucléaires non altérés et en petit nombre (moins de 5 / champ microscopiques à l'objectif 100), une flore de Döderlein abondante (*Lactobacillus*), quelques levures et quelques germes communs sans prédominance.

*Lactobacillus* : bacilles Gram positifs

#### Principales infections vaginales :

- Les candidoses
- Les trichomonases
- Les gardnerelloses, mobiluncoses et peptococcoses (vaginits non spécifiques appelées **vaginoses**, et provenant d'un déséquilibre de la flore vaginale normale).

Trichomonases, candidoses et vaginoses sont de loin les étiologies infectieuses les plus fréquentes. Juste Trichomonas et Candida représenteraient à eux deux 50 à 60 % des étiologies des leucorrhées dans les pays tropicaux.

On rencontre aussi :

- Les gonococcies
- Les infections à *Mycoplasma* et *Chlamydia*
- Les infections à bactéries communes (entérobactéries, streptocoque, *Haemophilus influenzae*)
- Les vaginites iatrogènes.

(voir les autres infections vaginales)

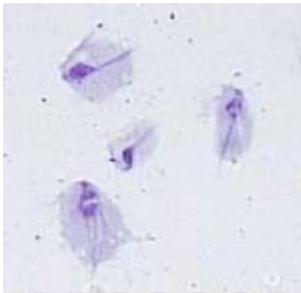
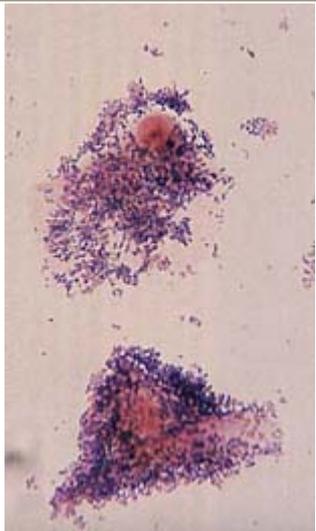
### Trichomonases, candidoses et vaginoses :

- *Trichomonas vaginalis* :  
A l'examen direct, on observe une forme végétative de taille à mobilité caractéristique en boucles.

Après coloration au Giemsa, on observe un flagellé de 10 à 20 µm, avec un gros noyau antérieur, des flagelles (4 antérieurs et 1 postérieur) et un axostyle antéro-postérieur très visible (voir photos).

- **Candida albicans :**  
A l'examen direct, on observe de nombreuses levures bourgeonnantes, accompagnées éventuellement de pseudo-mycélium. Après coloration de Giemsa, on retrouve ces éléments mycéliens colorés en bleu. Des levures peuvent être normalement présentes en faible quantité dans le vagin.
- **Vaginoses :**  
A l'examen direct, on observe beaucoup de cellules épithéliales recouvertes de très nombreux germes dont certains très mobiles en "vol de moucheron" très évocatrices de *Mobiluncus*. Après coloration de Gram, on observe de nombreux bacilles Gram - en amas ou recouvrant les cellules généralement de genre *Gardnerella*.  
La présence de fins bacilles Gram - incurvés évoque fortement le genre *Mobiluncus*

Tableau comparatif :

|                               | <b>Trichomonas</b>  | <b>Candida</b>   | <b>Vaginoses</b>  |
|-------------------------------|---|--|---|
| <b>Irritation vulvaire</b>    | modérée   | importante   | Pas ou peu  |
| <b>Douleur vulvaire</b>       | présente  | importante   | absente   |
| <b>Dysurie</b>                | oui   | oui  | non   |
| <b>Vagin érythémateux</b>     | oui   | oui + vulve  | pas ou peu  |
| <b>Leucorrhées</b>            | profuses  | modérées   | modérées  |
| <b>Couleur des pertes</b>     | verte   | blanc crème  | gris clair caract.  |
| <b>Consistance des pertes</b> | aqueuse, mousseux, nauséabond   | fine aqueuse, parfois aspect "lait caillé"   | homogène, liquide   |
| <b>pH</b>                     | > 5   | < 4.5  | > 5   |
| <b>Test à la potasse</b>      | parfois positif   | négatif  | toujours positif  |
| <b>Examen microscopique</b>   | ED : <i>Trichomonas</i> très mobile   | ED : levures ou filaments  | Gram : "Clues-cells", amas bactérien de bacilles Gram neg.  |
| <b>Leucocytes/champ</b>       | > 10  | > 5  | < 5   |
| <b>Aspect</b>                 | <br><i>Trichomonas vaginalis</i> ,<br>Giemsa | <br>Candida : filaments et levures, examen direct. | <br>"Clue cells", Gram |
| <b>Traitement</b>             | Métronidazole   | Nystatine ovules 6 J   | Métronidazole   |

**Les autres infections vaginales ou urétrales:**

- Les gonococcies
- Les chlamydioses et infections à *Mycoplasma*

- **Les infections à bactéries communes** (entérobactéries, streptocoque, *Haemophilus influenzae*) Elles sont rares, il faut que l'on retrouve plus de 50 % de la flore vaginale composée de cocci Gram + ou de bacilles Gram - pour conclure à un lien avec l'infection. Dans ce cas, le type de bactérie, sa morphologie et sa coloration de Gram permettent d'orienter l'antibiothérapie.
- **Les vaginites iatrogènes** (rare)  
Infection sur stérilet : *Actinomyces* et *Bacteroides*  
Syndrome du choc toxique chez les femmes utilisant des tampons, du à *Staphylococcus aureus*

## DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION URÉTRALE

### Définition :

Définie par la présence d'un écoulement urétral et/ou la présence d'au moins cinq polynucléaires au grossissement microscopique du frottis des sécrétions urétrales, l'urétrite pose un problème de diagnostic étiologique.

Nous parlerons plutôt ici des infections urétrales de l'homme. Celles de la femme sont traitées avec les infections vaginales. Les ulcères génitaux sont traités dans les MST.

### Diagnostic biologique :

Si du pus est observé au méat, le recueillir. Sinon, pratiquer tout d'abord un prélèvement du premier jet d'urine (les 15 premiers ml). Sans résultats, pratiquer enfin un prélèvement urétral.

Réaliser ensuite un examen direct et un frottis que l'on colorera par le bleu de Méthylène ou le Gram :

- A l'examen direct, on peut trouver *Trichomonas vaginalis* et des levures. (se reporter aux infections vaginales)
- A la coloration de Gram, la présence de diplocoques intracellulaires Gram négatif est très évocatrice de *Neisseria gonorrhoeae*.
- La présence de plus de 5 PNN par champs sans découvrir de cause probante oriente vers des *chlamydia* ou des *mycoplasma*

### Traitement :

- Traiter la cause de l'urétrite (se reporter aux chapitres concernés)

## VIRUS RESPONSABLES DES FIEVRES HEMORRAGIQUES

### Clinique :

on retrouve toujours les caractéristiques suivantes :

- période d'incubation de 3 à 18 jours
- apparition progressive ou soudaine de symptômes généraux pseudo-grippaux puis détérioration rapide de l'état général le 3ème ou 4ème jour
- **tendance aux saignements +++** (allant de simples pétéchies aux hémorragies massives souvent accompagnées d'état de choc cardio-vasculaire)

**Surveillance** : variable selon les virus.

Prélèvement de sang veineux (attention aux hémorragies). Numération des plaquettes et des leucocytes avec formule leucocytaire. Dosage de la bilirubine, des protéines urinaires. Mesure de la VS, éventuellement, après ponction lombaire, dosage de la protéinorachie et formule leucocytaire rachidienne.

### Traitement :

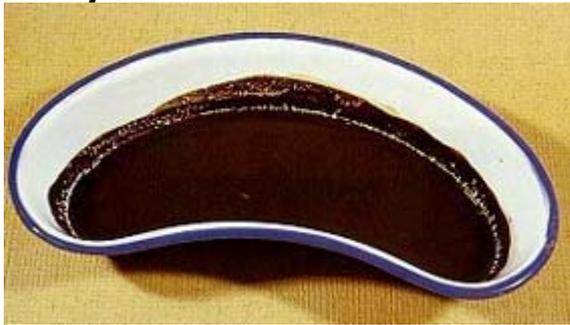
Il n'existe aucun traitement spécifique, le traitement est donc symptomatique, de préférence dans un centre hospitalier de grande taille. Attention, un isolement strict est souvent nécessaire.

**Etiologies :** (FH = fièvre hémorragique)

| Mode de transmission principal | Maladie                         | Agent        |             | Localisation                         |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------|-------------|--------------------------------------|
|                                |                                 | Famille      | Genre       |                                      |
| moustiques                     | Dengue hémorragique             | Flaviviridae | flavivirus  |                                      |
|                                | Fièvre de la vallée du Rift     | Bunyaviridae | phlebovirus | Afrique (Nord, Ouest, Est, Sud)      |
|                                | Fièvre jaune                    | Flaviviridae | flavivirus  |                                      |
| tiques                         | F.H. de Crimée Congo            | Bunyaviridae | nairovirus  | Asie (Chine), Moyen-Orient, Afrique  |
|                                | Maladie de la forêt de Kyasanur | Flaviviridae | flavivirus  |                                      |
|                                | Fièvre hémorragique d'Omsk      | Flaviviridae | flavivirus  |                                      |
| rongeurs                       | F.H. d'Argentine (virus Junin)  | Arenaviridae | arenavirus  |                                      |
|                                | F.H. de Bolivie (virus Machupo) | Arenaviridae | arenavirus  |                                      |
|                                | F.H. avec syndrome rénal        | Bunyaviridae | Hantavirus  |                                      |
|                                | Fièvre de Lassa                 | Arenaviridae | arenavirus  | Nigeria, Sierra Leone, Libéria       |
| inconnu                        | Maladie à virus Ebola           | Filoviridae  | filovirus   | Zaïre, Sud-Soudan, Kenya             |
|                                | Maladie à virus Marburg         | Filoviridae  | filovirus   | Europe, rare en Afrique (sud et est) |

Cas particuliers :

**Fièvre jaune :**



Arbovirose (ARthropods BOrn VIRus) transmise par piqûre de moustiques infestés, responsable d'une hépatonéphrite hémorragique mortelle à 50% dans sa forme la plus grave (aucun anticorps protecteur ni contre la fièvre jaune ni contre les autres flavivirus, ce qui atténue les symptômes et diminue la mortalité).

⊖ "black vomit" dans un haricot.

Dans sa forme caractéristique, le patient vomit un liquide noirâtre : "black vomit" signant pratiquement la maladie. La prévention par vaccination est remarquablement efficace.

Examens d'orientation :

- NFS : leucopénie et neutropénie.
- VS : élevée.
- Hyperbilirubinémie.
- Protéinurie : très élevée.
- Hyperprotéinorachie

**Dengue :**

Arbovirose tropicale transmise par piqûre de moustiques infestés, caractérisée par un syndrome infectieux sévère et se compliquant, surtout en Asie, d'une forme hémorragique grave.

Examens d'orientation :

- NFS : thrombopénie.

## LE VIH AU LABORATOIRE

- Diagnostic de l'infection par le VIH.
- Complications parasitaires
- Complications fongiques
- Complications bactériennes
- Liste récapitulative par organe des infections rencontrées chez une personne VIH positive
- Suivi d'une personne VIH positive

- VIH et grossesse, VIH et enfants
- Tableaux comparatifs des différents tests de dépistage du VIH (réalisé par l'OMS)
- Désinfectants actifs contre le VIH

## DIAGNOSTIC DU SIDA

Beaucoup de livres, d'articles, de colloques et de séminaires de spécialistes ont été consacrés aux questions traitant du diagnostic du SIDA, de l'utilité des tests de confirmation avec une clinique évocatrice, des critères d'entrée dans le stade SIDA, des protocoles polyantirétroviraux ... Nous nous bornerons donc à quelques rappels succins. Il vaut mieux se reporter à toute cette littérature pour avoir des détails et les dernières mises au point. On peut consulter les liens Internet de l'OMS concernant le VIH (en anglais). Par contre, le diagnostic biologique des infections opportunistes occupe une longue place de ce chapitre.

### Classification clinique des différents stades de l'infection par le VIH :

- Stade A : Assymptomatique
- Stade B : Symptomatique, avec des conditions imputables au VIH
- Stade C : Stade SIDA véritable

Signes cliniques de chacun des stades (ordre alphabétique) :

| Stade B :                                    | Stade C :   |
|--|---|
| Angiomatose bacillaire                       | Candidose profonde  |
| Candidose oropharyngée                       | Cancer cervical invasif   |
| Candidose vulvaire récidivante ou résistante | Coccidiomycose disséminée   |
| Dysplasie cervicale ou carcinome cervical    | Cryptococcose   |
| Diarrhées > un mois                          | Cryptosporidiose chronique  |
| Fièvre > 38.5 pendant un mois                | Encéphalopathie   |
| Leucoplasie chevelue                         | Herpes chronique ou pulmonaire  |
| Listériose                                   | Histoplasmose disséminée ou extrapulmonaire                                     |
| Maladies inflammatoires pelviennes           | Infection à CMV   |
| Neuropathie périphérique                     | Isosporose intestinale chronique  |
| Purpura thrombopénique idiopathique          | Leukoencéphalite multifocale progressive  |
| Zona répété                                  | Lymphome de Burkitt   |
|  | Lymphome immunoblastique  |
|  | Mycobactériose atypique (MAC, kansasii, xenopi) disséminées ou extrapulmonaires |
|  | Mycobactérioses diverses disséminées  |
|  | Pneumonie à Pneumocystis carinii  |
|  | Pneumonies à répétition   |
|  | Sarcome de Kaposi   |
|  | Septicémies récurrentes à Salmonelles   |
|  | Toxoplasmose cérébrale  |
|  | Tuberculose   |

Tableau extrait du Merck index 17th edition

### Circonstances de diagnostic du VIH :

- Aspect clinique évocateur : cf. tableau
- Partenaire HIV +
- Personne à risque (toxicomane, prostituée, coopérant !...)
- Femme enceinte : voir grossesse et VIH
- Demande du patient (doutes, arrêt du préservatif, examen pré-nuptial)
- Enfant né d'une mère séropositive
- En routine dans les banques de sang
- En préopératoire

## Dépistage du VIH :

Deux types de kits sont disponibles au dépistage du VIH :

- Les kits ELISA, en cupules, barrettes ou plaques, nécessitant soit une lecture optique, soit un système dédié (abbott IMX par exemple), adaptés aux grandes séries (mais pas au coup par coup), de bonne sensibilité et spécificité, pour un coût moyen au test d'environ 1 \$ US (1994).
- Les kits simples dits "rapides", à lecture visuelle, adaptés au coup par coup (mais pas aux grandes séries), de bonne sensibilité mais de spécificité inférieure à l'ELISA, pour un coup moyen au test de 2-2.5 \$ US (1994)

Pour plus de détails, on peut se reporter à la comparaison de kits effectuée par l'OMS (33 tests ELISA et 37 tests rapides).

En cas de résultat positif, les résultats doivent normalement être confirmés par un deuxième test comme le western blot, inaccessible aux laboratoires de petite taille. Il faut donc procéder à un envoi du prélèvement vers le centre de référence le plus proche.

### En pratique :

Dans les dispensaires, à moins de contraintes géographiques ou saisonnières particulières, il vaut mieux envoyer les prélèvements dans un plus gros laboratoire, ce qui reviendra à diminuer le coût d'achat d'un kit complet qui peut vite périmé sans avoir été utilisé entièrement.

Dans les laboratoires des CM et des CMA, à moins d'une grosse banque de sang, utiliser aussi des tests rapides.

Dans les gros laboratoires et les centres de transfusion, préférer les test ELISA. De plus, l'achat d'une petite chaîne permet aussi de réaliser d'autres sérologies.

Lorsque l'on ne dispose pas de tests, ou en attendant un résultat pour lequel on a du envoyer le prélèvement, une personne présentant quelques signes cliniques du stade B ou un signe clinique du stade C peut être considéré comme potentiellement et/ou probablement infecté par le VIH.

Voici certains critères qui ont été définis par l'OMS à Bangui en 1992. Ils ont déjà 8 ans, mais peuvent servir d'exemple.

### Définition clinique du SIDA en Afrique (Atelier OMS Bangui)

#### ADULTES

*Le SIDA chez un adulte est reconnu par l'existence d'au moins deux signes majeurs avec au moins d'un signe mineur en l'absence de critères d'immunodéficience connue comme : cancer, malnutrition et autres étiologies.*

Signes majeurs : perte de poids > 10 % du poids corporel  
diarrhée chronique > 1 mois  
fièvre prolongée > 1 mois (intermittente ou continue)

Signes mineurs : toux persistante > 1 mois  
prurit généralisé  
herpès persistant  
candidose buccale  
herpès disséminé et chronique  
lymphadénopathie généralisée

*La présence d'un sarcome de Kaposi généralisé ou d'une méningite à cryptocoques permettent d'affirmer le diagnostic de SIDA.*

### Définition clinique de Bangui révisée par l'équipe tanzanienne

Critères majeurs : amaigrissement (10 % ou plus)  
asthénie sévère

Critères mineurs : diarrhée chronique > 1 mois  
fréquents  
fièvre persistante > 1 mois

Autres signes : Kaposi agressif  
candidose buccale  
herpès cutanéomuqueux persistant  
zona > 1 mois  
prurit généralisé inexplicable  
toux persistante  
lymphadénopathie généralisée  
signes neurologiques  
méningite à germes opportunistes

*Chaque signe vaut 1 point, 4 points ou plus avec au moins 1 critère mineur sont nécessaires.*

## COMPLICATIONS PARASITAIRES AU COURS DU SIDA

Suite à l'immunodépression engendrée par le VIH, de nombreuses affections parasitaires surviennent au décours de la maladie :

- Toxoplasmose
- Pneumocystose
- Leishmaniose viscérale

- Giardiase
- Isosporose
- Cryptosporidiose
- Microsporidiose
- Cyclosporose
- Anguillulose

La **toxoplasmose**, malgré les redoutables encéphalite qu'elle provoque chez l'immunodéprimé, n'est pas détaillée ici. En effet, son diagnostic fait appel à des techniques complexes et irréalisables dans un petit laboratoire (sérologie en début d'infection VIH, immunohistochimie, immunofluorescence, culture cellulaire, PCR ...). On peut toujours essayer de mettre en évidence directement le toxoplasme dans divers prélèvements (sang, moelle osseuse, ponction ganglionnaire, LCR ...) en réalisant des lames colorées à la suite au Giemsa, mais leur petit nombre empêche de voir les trophozoïtes (intra ou extra cellulaires, en forme de croissant, de taille 5 µm).

## COMPLICATIONS FUNGIQUES AU COURS DU SIDA

Suite à l'immunodépression engendrée par le VIH, de nombreuses affections fongiques surviennent au décours de la maladie :

- Candidoses digestives
- Cryptococcose
- Histoplasmoses
- Aspergillose invasive
- Dermatophytoses
- Pyriase (Pyiriasis versicolor)

## COMPLICATIONS BACTERIENNES AU COURS DU SIDA

Suite à l'immunodépression engendrée par le VIH, de nombreuses affections bactériennes surviennent au décours de la maladie :

- Tuberculose
- Mycobactérioses atypiques
- Angiomatose bacillaire
- Rhodococcus equi
- Salmonelloses
- Syphilis

## LISTE RECAPITULATIVE PAR ORGANE DES INFECTIONS RETROUVÉES CHEZ DES PATIENTS VIH POSITIFS

\* = rare

### Pathologies respiratoires :

- Pneumonie à *Pneumocystis carinii*.
- Pneumonie à CMV.
- Pneumopathie à *Cryptococcus neoformans*.
- Pneumopathie à *Histoplasma capsulatum*.
- Candidose pulmonaire.
- Mycobactériose (BK et atypiques).
- Aspergillose pulmonaire.
- Coccidiomycose pulmonaire \*.
- Toxoplasmose pulmonaire \*.
- Nocardiose pulmonaire \*.
- Blastomycose pulmonaire \*.

- Pneumonie bactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*).
- Pneumopathie à HHV-6 \*.
- Sarcome de Kaposi pulmonaire \*.
- Lymphomes malins non hodgkiniens.
- Pneumopathie lymphoïde interstitielle \*.
- Pneumopathie interstitielle à *Mycoplasma* \*.

#### **Pathologies gastro-intestinales :**

- Candidoses buccales.
- Candidoses oesophagiennes.
- Lymphomes malins non hodgkiniens (estomac, grêle et colon) \*.
- Sarcome de Kaposi digestif \*.
- Cryptosporidiose.
- Isosporose.
- Microsporose.
- Cyclosporose.
- Giardiase.
- Blastocystose.
- Infections bactériennes : *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter pylori*.
- Infections virales : CMV, adénovirus, rotavirus, astrovirus.
- Herpes buccal ou périanal.
- Histoplasmose buccale.
- Mycobactériose digestive (MAC et TB).

#### **Pathologies du système nerveux central :**

- Encéphalite ou leucoencéphalite à HIV.
- Méningoencéphalomyélite à CMV.
- Encéphalopathie à *Toxoplasma gondii*.
- Méningite à *Cryptococcus neoformans*.
- Lymphomes malins non hodgkiniens.
- Encéphalopathie herpétique.
- Méningite tuberculeuse.
- Neurosyphilis rapide.
- Infections bactériennes.

#### **Pathologies des yeux :**

- Rétinite à CMV.
- Zona oculaire.
- Toxoplasmose oculaire.
- Infections bactériennes \*.

#### **Pathologies ganglionnaires :**

- *Mycobacterium avium* complexe.
- *Mycobacterium tuberculosis*.
- *Cryptococcus neoformans*.
- Sarcome de kaposi.
- Lymphomes malins non hodgkiniens.
- *Bartonella henselae*.

#### **Splénomégalies :**

- M *avium* complexe (MAC).

- *M tuberculosis*.
- *Cryptococcus neoformans*.
- Cytomégalovirus.
- Sarcome de Kaposi.
- Lymphomes malins.

#### **Pathologies de la moelle et du sang :**

- Cytopénies : anémie, Thrombopénie, neutropénie, lymphopénie, et même pancytopenie. Ceci peut-être majoré par les médicaments utilisés (ZDV, TMP).
- Mycobactérioses médullaires.
- Cryptococcose médullaire.
- Leishmanioses viscérales.
- Néoplasies : LMNH, Burkitt ou Burkitt-like.
- Plasmocytose (polyclonale).

#### **Pathologies endocriniennes :**

- Destruction partielle des surrénales.
- Lymphome surrénalien \*.
- Infection surrénalienne à CMV \*, cryptococcose surrénalienne \*.
- Mycobactériose surrénalienne \*.

#### **Pathologies hépatobiliaires :**

- Hépatite virale (même mode de transmission que le VIH).
- Stéatose.
- Lymphome hépatique.
- Mycobactériose à MAC.
- Dissémination fongique hépatique (*C. neoformans*, *H. capsulatum* et *C. immitis*).
- LMNH secondaires (métastases).

#### **Pathologies réno-génito-urinaires :**

- Néphropathies associée au VIH : NAVIH (HIVAN en anglais), avec protéinurie.
- Mycobactériose rénale, infection à CMV, Kaposi rénal ou prostatique.
- Cryptococcose \*, histoplasmosse \* ou toxoplasmose \* rénale.
- Papillomavirus évoluant en carcinome, chez la femme.
- Effets indésirables sur les reins de nombreux médicaments.

#### **Pathologies dermatologiques :**

- Sarcome de Kaposi.
- Cancers de la peau.
- Herpes génital et/ou anal.
- Molluscum contagiosum.
- Gale norvégienne (gale croûteuse).
- Angiomatose bacillaire.
- Staphylococcies cutanées.
- hypersensibilité aux médicaments.
- Dermatoses papulo-squameuses : dermatite séborrhéique, psoriasis, folliculites
- Infections fongiques : dermatophytes, pityriasis versicolor, candidoses.
- Mycobactérioses cutanées.

### **SUIVI D'UNE PERSONNE VIH POSITIVE**

Le suivi d'une personne VIH positive recourt normalement à des examens très spécialisés, très chers et très peu réalisés dans les pays en développement (charge virale, antigénémie P24 ...).

Dans un laboratoire de dispensaire, de CM et même de CMA, le seul examen spécifique réalisé est le dépistage du VIH, par une méthode ELISA ou par un test rapide.

Cependant, on peut toutefois assurer un suivi minimum au patient séropositif pour le VIH :

- Suivi clinique débouchant éventuellement sur un traitement médicamenteux.
- Suivi psychologique
- Suivi biologique

D'autre part, les polythérapies antirétrovirales sont presque inaccessibles dans les pays en développement malgré de nombreux efforts des gouvernements, des industriels et des organisations internationales. On peut à ce sujet consulter un article de documentation en anglais : Rapport de MSF sur le congrès de Durban (Afrique du Sud) en Juillet 2000 (200 Ko).

Le suivi biologique permet de confirmer ou d'infirmer les présomptions cliniques. En outre, il permet aussi d'orienter vers un traitement spécifique contre une ou plusieurs infections opportunistes. De nombreux médicaments sont maintenant accessibles en générique.

Le suivi biologique est spécialement indiqué pour :

- Les diarrhées persistantes (Cryptosporidiose, Isosporose, Microsporose, Cyclosporese, Giardiase, Blastocystose, diarrhées bactériennes)
- Les maladies cutanées (candidoses, dermatophytoses, pytirose ...)
- Des fièvres résistantes aux antibiotiques : aspergillose, leishmaniose
- Les troubles neurologiques (cryptococcose)
- Les troubles broncho-pulmonaires (Pneumocystose, Tuberculose, pneumonies bactériennes)
- Les troubles génito-urinaires (infections et MST associées)
- Les mycobactérioses diverses
- Les complications hématologiques : anémies, leucopénies, thrombopénies
- Les complications nutritionnelles

## **VIH ET GROSSESSE - VIH ET ENFANT**

### **VIH ET GROSSESSE**

Augmentation du risque de transmission mère-enfant :

- Charge virale élevée chez la mère en fin de gestation et/ou pendant l'accouchement
- Accouchement prématuré, rupture prématurée des membranes
- Allaitement

Le risque est diminué de 50% lors d'un accouchement par césarienne.

Si l'enfant est contaminé, le risque qu'il développe rapidement (pendant les 18 premiers mois) des infections opportunistes, une encéphalopathie ou qu'il décède, est augmenté :

- Si la mère était au stade SIDA
- Si la mère avait un nombre de CD4 < 400/ $\mu$ l
- Si la mère avait une forte antigénémie p24

Une thérapie par zidovudine diminue la transmission périnatale du VIH de 66% : commencée entre la 14<sup>ème</sup> et la 34<sup>ème</sup>, puis continuée jusqu'à la fin de la grossesse, avec injection intraveineuse de zidovudine pendant le travail et l'accouchement puis administration orale à l'enfant 8 à 12 heures après l'accouchement et pendant 6 semaines.

Ceci justifie pleinement un dépistage systématique du VIH chez les femmes enceintes dans les pays en développement.

## VIH ET ENFANT

### Généralités :

L'infection pédiatrique au VIH est acquise en périnatal : in utero avant la naissance, pendant l'accouchement ou via l'allaitement. Il y a peu de cas de contamination par transfusion de sang ou de produits dérivés. Chez les adolescents de 13 à 19 ans, les manifestations opportunistes et néoplasiques sont similaires à celles de l'adulte.

### Diagnostic :

Le diagnostic de l'infection à VIH chez l'enfant de moins de 18 mois est compliqué à cause de la présence éventuelle d'anticorps maternels acquis de façon passive pendant la grossesse. Les tests VIH recherchant les anticorps sont insuffisants. Il faut donc des méthodes bien plus perfectionnées qu'un simple test ELISA (culture virale, recherche d'ARN, PCR, recherche de l'antigène p24, recherche des IgA) irréalisables dans bien des laboratoires. Une contamination pendant l'accouchement verra une PCR négative à la naissance puis positive pendant les premiers mois de la vie.

On admet généralement qu'un test ELISA pratiqué à l'âge d'un an est fiable (peu de faux négatifs).

### Clinique chez l'enfant :

Comme on l'a vu pour VIH et grossesse, de nombreux facteurs maternels influent sur le risque de développer une infection par le nouveau-né. On peut séparer les enfants infectés en deux groupes :

- Dans 10-25 % des cas, les enfants manifestent une immunodépression sévère et rapide (infections opportunistes, anémies, candidose persistante, encéphalopathie...) avec une mortalité proche de 100 % avant 2 ans.
- Pour les 75-90 % restant, on observe une progression plus lente, avec une survie d'une dizaine d'années voire plus, même en présence de signes cliniques sérieux (splénomégalie, hépatomégalie, lymphadénopathie, maladies cutanées, infections respiratoires). La maladie peut rester asymptomatique jusqu'à l'adolescence.

Particularités cliniques :

Pathologies pulmonaires :

- Pneumonie à *Pneumocystis carinii* : atteint la moitié des enfants au stade SIDA. Les enfants à faible survie développent l'infection dans la première année de la vie.
- Infections bactériennes récurrentes, entraînent la mort de 20 % des enfants environ. On recommande souvent une antibioprophylaxie aux jeunes enfants nés de mère séropositive pour le VIH, jusqu'à confirmation du diagnostic chez l'enfant.
- La Pneumonie Lymphoïde Interstitielle (PLI) n'est pas un élément de clinique caractéristique du SIDA chez l'adulte, cependant, elle peut atteindre 20% des enfants contaminés.
- Les mycobactéries et les infections fongiques sont plutôt rares chez l'enfant, par contre, on rencontre un certain nombre d'affections à CMV.

Pathologies neurologiques :

- Encéphalopathie progressive à VIH, observée dans 30 à 60 % des cas : démence, perte du langage, de la motricité, de l'apprentissage
- Microcéphalie, atrophie corticale, hypertrophie ventriculaire, démyélinisation.
- Toxoplasmose, cryptococcose, CMV : comme chez l'adulte.

Néoplasies :

- Moins fréquent que chez l'adulte. Peu de lésions de Kaposi.
- Les pathologies les plus fréquentes sont le LMNH ou le lymphome de Burkitt. On peut aussi observer des lymphomes de MALT.

Autres particularités :

- Les diarrhées sont plus fréquentes et plus persistantes que chez l'adulte. En milieu tropical, elles apparaissent plus tôt dans la vie que pour d'autres enfants non infectés. Les microorganismes fréquemment rencontrés sont le CMV, les salmonelles et les rotavirus.
- Fièvre, vomissements, anorexie et déshydratation accompagnent souvent ces diarrhées.

## KITS DISPONIBLES POUR LE DIAGNOSTIC DU VIH

### TESTS ELISA

| Nom du test et/ ou du fabricant               | Report No. | Nombre de tests par kit | Longueur d'onde (nm) | Durée du test (h. min) | Panel Global            |                        | Θ values |          | cout au test en \$US/année |
|---|------------|-------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----------|----------|----------------------------|
|   |            |                         |                      |                        | Sensibilité % (95%CL)   | Spécificité % (95%CL)  | pos sera | neg sera |                            |
| Detect HIV 1 + II                             | 3          | 96                      | 450                  | 2.30                   | 100                     | 97.4                   | 12.7     | -2.1     |                            |
| (Biochem)                                     |            | 192                     |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (94.0 - 99.2)          |          |          |                            |
| Recombigen HIV-1/2 EIA                        | 7          | 192                     | 492                  | 2.55                   | 100                     | 100                    | 10.4     | -5.0     | 1.7/93                     |
| (Cambridge Biotech)                           |            |                         |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (99.7 - 100.0)         |          |          |                            |
| Abbott 3rd generation HIV-                    |            | 100                     | 492                  |                        | 100.0                   | 100.0                  |          |          |                            |
| 1/HIV-2 EIA (Abbott GmbH)                     |            | 1000                    |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (99.7 - 100.0)         |          |          |                            |
| Vironostika HIV Uni-Form II                   | 9          | 192                     | 450                  | 2.04                   | 100.0                   | 98.8                   | 7.4      | -3.0     | 1.7/94                     |
| (Organon Teknika)                             |            | 576                     |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (97.6 - 100.0)         |          |          |                            |
| Biotest Anti HIV-1/2 recombinant (Biotest AG) | 9          | 96<br>480               | 492<br>570-650       | 1.58                   | 100.0<br>(99.6 - 100.0) | 99.1<br>(98.1 - 100.0) | 74.9     | -3.3     | 1.2/94                     |
| Innotest HIV-1/HIV-2 Ab. s.p.                 | 9          | 96                      | 450                  | 2.08                   | 100.0                   | 98.8                   | 14.0     | -3.8     | 1.5/94                     |
| (Innogenetics n v)                            |            | 480                     |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (97.6 - 100.0)         |          |          |                            |
| UBI HIV 1/2 EIA                               | 9          | 192                     | 492                  | 1.45                   | 100.0                   | 100.0                  | 10.8     | -3.2     | 1.0/94                     |
| (United Biomedical Inc.)                      |            | 960                     |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (99.7 - 100.0)         |          |          |                            |
| Enzygnost Anti-HIV 1/-HIV 2                   | 9          | 192                     | 450                  | 2.10                   | 100.0                   | 99.5                   | 24.8     | -2.6     | 2.6/92                     |
| (Behringwerke AG)                             |            |                         |                      |                        | (99.6 - 100.0)          | (98.7 - 100.0)         |          |          |                            |
| HIVisual 1 & 2                                | 10         | 192                     | 450 (opt.)           | 2.55                   | 90.9                    | 94.9                   | 1.9      | -1.2     | <1.0/95                    |
| (Immuno Diagnostics Inc.)                     |            |                         |                      |                        | (87.4 - 94.4)           | (92.5 - 97.3)          |          |          |                            |
| HIV-1/HIV-2 ELISA                             | 10         | 96                      | 492                  | 2.25                   | 100.0                   | 97.3                   | 72.2     | -2.7     | 0.9/94                     |

|  |    |     |            |      |                        |                       |      |      |         |
|--|----|-----|------------|------|------------------------|-----------------------|------|------|---------|
| (Genelabs Diagnostics)                                 |    | 192 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (95.6 - 99.0)         |      |      |         |
| ETI-AB-HIV-1/2 K                                       | 10 | 192 | 450        | 2.04 | 100.0                  | 98.8                  | 10.4 | -2.5 | 1.5/'94 |
| (Sorin Biomedica)                                      |    |     | 630        |      | (99.6 - 100.0)         | (97.6 - 100.0)        |      |      |         |
| HIV SCREEN   | 10 | 96  | 450        | 1.35 | 100.0                  | 99.7                  | 21.5 | -4.1 | 0.6/'95 |
| (Labsystems OY)  |    | 960 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (99.1 - 100.0)        |      |      |         |
| HIV EIA  | 10 | 96  | 450        | 1.5  | 100.0                  | 99.4                  | 14.2 | -3.9 | 0.6/'95 |
| (Labsystems OY)  |    | 960 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (98.6 - 100.0)        |      |      |         |
| IMx HIV-1/HIV-2 3rd gen.Plus (Abbott GmbH Diagnostika) | 11 | 100 | IMx system | 3.20 | 99.6<br>(98.9 - 100.0) | 97.9<br>(96.4 - 99.4) | 9.1  | -2.1 | 3-4/'95 |
| Enzygnost Anti-HIV1/2 Plus                             | 11 | 192 | 450        | 2.05 | 100.0                  | 99.7                  | 19.1 | -6.6 | 1.0/'95 |
| (Behringwerke AG)                                      |    | 960 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (99.1 - 100.0)        |      |      |         |
| ICE* HIV-1.O.2   | 11 | 96  | 450        | 2.30 | 100.0                  | 99.4                  | 16.8 | -4.3 | 0.6/'95 |
| (Murex Biotech Ltd.)                                   |    | 480 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (98.6 - 100.0)        |      |      |         |
| Vironostika Uni-Form II plus O                         | 11 | 192 | 450        | 2.05 | 100.0                  | 100.0                 | 17.2 | -4.1 | 1.5/'97 |
| (Organon Teknika n v)                                  |    | 576 |            |      | (99.6 - 100.0)         | (99.7 - 100.0)        |      |      |         |
| Genscreen HIV1/2                                       | 11 | 96  | 450        | 2.05 | 100.0                  | 98.5                  | 22.8 | -2.7 | 1.5/'95 |
| (Sanofi Diagnostics Pasteur)                           |    | 480 | 620        |      | 99.6 - 100.0)          | (97.2 - 99.8)         |      |      |         |

### TEST SIMPLES OU RAPIDES

| Nom du test et/ ou du fabricant | Report No. | Nombre de tests par kit | durée du test (h. min) | Panel Global          |                       | Variabilité inter lecteur % | Résultats indéterminés % | cout au test en \$US/année |
|---------------------------------|------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|
|                                 |            |                         |                        | Sensibilité % (95%CL) | Spécificité % (95%CL) |                             |                          |                            |
| Serodia HIV-1/2                 | 8          | 100                     | 2.05                   | 100.0                 | 100.0                 | 1.1                         | 0.0                      | 2.8/'93                    |
| (Fujirebio)                     |            | 220                     |                        | (99.6 - 100.0)        | (99.7 - 100.0)        |                             |                          |                            |
| Capillus HIV-1/HIV-2            | 9          | 20                      | 0.03                   | 100.0                 | 98.8                  | 0.0                         | 0.0                      | 2.2/'94                    |
| (Cambridge Biotech Ltd.)        |            | 100                     |                        | (99.6 - 100.0)        | (97.6 - 100.0)        |                             |                          |                            |
| Immunocomb II BiSpot            | 9          | 36                      | 0.40                   | 100.0                 | 99.7                  | 4.5                         | 0.0                      | 1.7/'94                    |

|   |    |        |      |                |                |     |     |          |
|---|----|--------|------|----------------|----------------|-----|-----|----------|
| HIV 1&2   |    |        |      |                |                |     |     |          |
| (PBS Orgenics)  |    |        |      | (99.6 - 100.0) | (99.1 - 100.0) |     |     |          |
| Retrocell HIV-1   | 9  | 100    | 3.05 | 100.0          | 100.0          | 2.2 | 0.0 | 1.45/'94 |
| (Abbott GmbH Diagnostika)                               |    |        |      | (99.6 - 100.0) | (99.7 - 100.0) |     |     |          |
| MicroRED HIV-1/HIV-2 Ab Test                            | 9  | 192    | 0.35 | 98.5           | 95.5           | 1.5 | 0.5 | 1.0/'94  |
| (Agen Biomedical)                                       |    | 960    |      | (97.0 - 100.0) | (93.2 - 97.7)  |     |     |          |
| SimpliRED HIV-1/HIV-2 Ab Test                           | 9  | 25     | 0.03 | 99.2           | 87.3           | 9.5 | 0.3 | 3.0/'94  |
| (Agen Biomedical)                                       |    | 100    |      | (98.2 - 100.0) | (83.7 - 90.9)  |     |     |          |
| HIV(Sav) 1&2 Rapid Sero Test                            | 10 | 50     | 0.05 | 97.7           | 96.7           | 5.1 | 0.2 | 1.9/'94  |
| (Diatech Diagnostica Ltd/ Healthcare Technologies Ltd.) |    |        |      | (95.9 - 99.5)  | (94.8 - 98.6)  |     |     |          |
| ENTEBE HIV Dipstick                                     | 10 | 48     | 0.30 | 100.0          | 96.4           | 5.0 | 1.3 | 0.8/'94  |
| (Hepatika Laboratories)                                 |    | 96     |      | (99.6 - 100.0) | (94.4 - 98.4)  |     |     |          |
| Dipstick-HIV 1 + 2                                      | 10 | 48/96  | 0.30 | 100.0          | 98.2           | 1.0 | 0.3 | 0.5/'94  |
| (Immuno-Chemical Laboratories)                          |    | 192    |      | (99.6 - 100.0) | (96.8 - 99.6)  |     |     |          |
| SPAN COMBAIDS VISUAL                                    | 10 | 48     | 0.30 | 100.0          | 88.0           | 6.3 | 3.2 | 0.5/'94  |
| (Span Diagnostics Ltd.)                                 |    | 96     |      | (99.6 - 100.0) | (84.5 - 91.5)  |     |     |          |
| DIA(Dot Immuno Assay) HIV                               | 10 | 48     | 0.30 | 99.6           | 99.4           | 0.8 | 0.2 | <1.0/'94 |
| 1+2 (Weiner Lab.)                                       |    |        |      | (98.8 - 100.0) | (98.6 - 100.0) |     |     |          |
| RED-DOT HIV 1&2   | 11 | 25     | 0.03 | 100.0          | 94.9           | 9.5 | 1.9 | 2.9/'94  |
| (Cal Test Diagnostics Inc.)                             |    | 50     |      | (99.6 - 100.0) | (92.5 - 97.3)  |     |     |          |
| HIVCHEK System 3 Test Kit                               | 11 | 100    | 0.03 | 99.6           | 99.7           | 1.0 | 0.2 | 4.4/'96  |
| (Ortho Diagnostic Systems)                              |    |        |      | (98.9 - 100.0) | (99.1 - 100.0) |     |     |          |
| HIV TRI-DOT   | 11 | 10/20  | 0.03 | 99.6           | 99.7           | 3.2 | 0.2 | 2.0/'96  |
| (J. Mitra & Co. Ltd.)                                   |    | 50/100 |      | (98.9 - 100.0) | (99.1 - 100.0) |     |     |          |

|                                       |    |     |      |                |                |      |     |        |
|---------------------------------------|----|-----|------|----------------|----------------|------|-----|--------|
| AccuSpot HIV-1 and 2                  | 11 | 50  | 0.03 | 100.0          | 86.3           | 10.8 | 5.0 | 1.3/94 |
| (Specialty BioSystems Inc.)           |    |     |      | (99.6 - 100.0) | (82.5 - 90.1)  |      |     |        |
| BIONOR HIV-1&2                        | 11 | 40  | 0.30 | 100.0          | 98.8           | 1.0  | 0.2 | 2.5/95 |
| (Bionor A/S)                          |    | 200 |      | (99.6 - 100.0) | (97.6 - 100.0) |      |     |        |
| SEROCARD HIV                          | 11 | 40  | 0.10 | 100.0          | 97.9           | 1.5  | 0.2 | 4.0/94 |
| (Trinity Biotech PLC)                 |    |     |      | (99.6 - 100.0) | (96.4 - 99.1)  |      |     |        |
| SEROO STRIP HIV-1/2                   | 11 | 30  | 0.10 | 98.9           | 100.0          | 1.5  | 0.0 | 1.5/95 |
| (Saliva Diagnostic Systems Pty. Ltd.) |    |     |      | (97.6 - 100.0) | (99.7 - 100.0) |      |     |        |

## DESINFECTANTS ACTIFS CONTRE LE VIH

Voici un tableau comportant une liste de désinfectants, la concentration minimum active et la concentration conseillée pour désinfecter des locaux ou du matériel potentiellement contaminé par le VIH. "Household bleach" est le nom anglais de l'eau de Javel.

**Table 9 - Laboratory Disinfectants and Fixatives Effective Against HIV (adapted from Tierno, 1986)**

|  | Minimum Effective Concentration | Common Concentration to Use |
|--|---------------------------------|-----------------------------|
| Household bleach (sodium hypochlorite) | 0.02 %                          | 0.5 %                       |
| Hydrogen peroxide                      | 0.3 %                           | 1-3 %                       |
| Rubbing alcohol (isopropyl alcohol)    | 30 %                            | 50 %                        |
| Lysol                                  | 1 %                             | 1 %                         |
| Quaternary ammonium chloride           | 0.08 %                          | 1 %                         |
| Nonidet P-40                           | 1 %                             | 1 %                         |
| Ethanol (ethyl alcohol)                | 25 %                            | 50-95 %                     |
| Beta-proprionolactone                  | 1:400                           | 1:400                       |
| Formalin                               | 2 %                             | 4-10 %                      |
| Glutaraldehyde                         | 0.1 %                           | 1-2 %                       |

Dans tous les cas, ne pas oublier que les virus des hépatites sont bien plus résistants que le virus du SIDA.

## DIAGNOSTIC D'UNE TUBERCULOSE PULMONAIRE

**Épidémiologie** : actuellement 3 millions de morts par an dus à la tuberculose.

Parasite strict de l'homme, *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch ou BK) est l'agent principal de la tuberculose humaine. On ne le trouve pas dans la nature en dehors des produits contaminés par l'homme infecté.

Il existe d'autres types de tuberculose : cutanées, ganglionnaires, hépatiques, spléniques, méningées, péricardiques, ostéoarticulaire... se reporter aux tuberculoses extrapulmonaires.

Autres mycobactéries : la lèpre et les mycobactérioses atypiques

Actuellement, deux phénomènes compliquent l'infection :

- La fréquence des infections compliquant l'évolution du SIDA (voir VIH au laboratoire)
- L'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

### Clinique :

- Invasion : toux prolongée, expectorations, hémoptysie, douleurs thoraciques, diminution de l'état général, amaigrissement.
- Évolution : spontanément létale dans 50 % des cas.

L'infection tuberculeuse est diagnostiquée sur la base de trois critères :

- Épreuves tuberculiques : intradermoréaction.
- Image radiologique (*photographie : poumons tuberculeux*)
- Examens de laboratoire



### Zone d'endémie :

Cosmopolite, surtout dans les pays à faibles capacités diagnostiques. Maladie très liée à une forte prévalence de personnes VIH + (Afrique, Asie du sud-est), voir VIH au laboratoire.

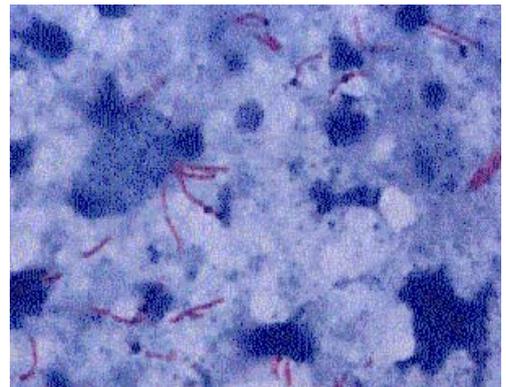
### Prélèvement et traitement du prélèvement :

- Pratiquer un prélèvement de crachat ou d'expectorations induites. Ne pas oublier que la qualité du prélèvement est primordiale.
- Étaler le crachat sur une lame puis pratiquer une coloration de Ziehl

**Examen direct** : on observe :

*bacilles tuberculeux, coloration de Ziehl.*

- Bacille fin, de coloration rouge sur fond bleu, immobile, grêle, rectiligne ou parfois légèrement incurvé, à extrémités arrondies.
- Dimensions habituelles : 1-4  $\mu\text{m}$  de longueur pour 0,3  $\mu\text{m}$  de largeur.
- Formes coccoïdes et formes longues, exceptionnellement ramifiées.
- Alcoolo-Acido-Résistants.



Les lames doivent être lues pendant au moins 15 minutes avant de conclure à une absence de bacilles. Elles seront parcourues d'une extrémité à l'autre en zigzaguant dans la largeur.

En cas de résultat négatif, toujours premièrement remettre en cause la qualité du prélèvement ou l'œil du technicien. Il est donc conseillé de recommencer l'opération 3 jours de suite.

La culture des mycobactéries est réservée à des laboratoires spécialisés, dépendant généralement des services sanitaires spécialisés dans la lutte contre la tuberculose.

### Pathologies habituellement associées :

Immunodépression (VIH, hémopathies).

### Traitement habituel :

Polyantibiothérapie per os : traitement de six mois à deux ans suivant les cas. Voici l'exemple d'un protocole de six mois, tous les antituberculeux sont disponibles en génériques :

- Isoniazide : 5 mg/Kg/j pendant 6 mois
- Rifampicine : 10 mg/Kg/j pendant 6 mois
- Éthambutol : 20 mg/Kg/j pendant 2 mois
- Pyrazinamide : 30 mg/Kg/j pendant 2 mois

Surveiller les fonctions hépatiques, rénales et hématologiques.

## DIAGNOSTIC D'UNE TUBERCULOSE EXTRA-PULMONAIRE

Les tuberculoses extra-pulmonaires concernent différentes localisations :

- urinaire ou génito-urinaire : localisation extra-pulmonaire la plus fréquente.
- ganglionnaire, organes hématopoïétiques
- méningite
- articulaire
- digestive et pleurale
- miliaire (dissémination hémotogène à tout l'organisme)

## TUBERCULOSE GÉNITO-URINAIRE

### Introduction :

La tuberculose est une maladie d'organe atteignant chez l'homme les 2 reins, les uretères, la vessie, la prostate, les déférents, les épидидymes, les testicules. Chez la femme, l'appareil génital peut être indemne de tuberculose car il n'y a pas de continuité entre l'appareil urinaire et l'appareil génital.

### Pathogénie :

Le bacille tuberculeux atteint les reins par voie hémotogène, en provenance des poumons ou de l'appareil digestif, se développe au niveau des néphrons de la corticale rénale puis "descend le cours de l'urine et remonte le cours du sperme"

### Circonstances cliniques de découverte :

En plus d'une IDR ++ et des signes cliniques généraux de tuberculose, on note, isolés ou associés:

Des troubles urologiques :

Quand l'infection est limitée au rein, le malade est habituellement asymptomatique, aussi, il n'est pas rare pour un rein d'être détruit progressivement sans bruit: les douleurs rénales et l'hématurie d'origine rénale sont rares. Les symptômes les plus fréquents de la tuberculose urogénitale (pollakiurie, brûlures) ne vont survenir que lorsque la maladie s'est étendue à la vessie.

- Cystite : Il s'agit d'un syndrome clinique traduisant l'inflammation de la vessie (dans 60 % des cas) et associe pollakiurie souvent nocturne, douleurs mictionnelles à type de brûlures surtout en fin de miction
- Hématurie : volontiers microscopique.
- Douleurs rénales.
- Troubles mictionnels : chez le vieillard : parfois dysurie, chez l'enfant : énurésie.

Des troubles génitaux :

Les atteintes génitales n'entraînent pas en général de symptômes tant que l'épididyme n'est pas touché :

- Epididymite : Elle ne réagit pas au traitement habituel des épидидymites à germe banal et est unilatérale, non douloureuse, associée à une oedème scrotal et une hémospemie.
- Nodule froid intra-prostatique
- Fistule scrotale : signe pratiquement la tuberculose.
- Chez la femme, douleur abdominale basse

### Diagnostic biologique :

On effectue 3 recherches (au moins), 3 jours de suite, sur un prélèvement d'urines du matin recueillies à mi-jet:

Lors de l'examen direct du culot de centrifugation, recherche de bacilles acido-alcool-résistant avec la coloration de Ziehl

Une pyurie abactérienne ou résistante aux antibiotiques standards doit rendre méfiant et faire rechercher une tuberculose.

### **Évolution :**

Quelques cas de guérison spontanée par exclusion des foyers tuberculeux. Dans de tels cas, possibilité de recrudescence de la maladie à l'occasion d'une baisse de l'état général.

En général:

aggravation avec symptômes vésicaux augmentés, pollakiurie allant jusqu'à l'incontinence, insuffisance rénale évoluant vers la mort. Une tuberculose généralisée possible.

Sans traitement: 40% de survie à 5 ans, avec traitement : stabilisation des lésions et 96 % de survie à 5 ans.

### **Traitement**

Médical : se reporter au traitement d'une tuberculose pulmonaire

Il est à noter qu'un traitement chirurgical peut venir en complément du traitement médical :

- Il lève l'obstacle lorsqu'il se crée (réimplantation urétérale...), en général 2 à 3 mois après le début du traitement.
- Il peut aider à la guérison bactériologique en supprimant un rein détruit, repère de bacilles tuberculeux.
- Il élimine les parenchymes détruits qui font "parler d'eux" une fois la guérison bactériologique acquise: infection urinaire récidivante secondaire à une poche inactive infectée.

### **Tests de guérison :**

- Reprise du travail sans perte de poids
- Absence de BK dans les urines à 3 reprises
- Absence de pyurie.

### **TUBERCULOSE GANGLIONNAIRE**

On observe lignes cliniques généraux de tuberculose ainsi qu'une ou plusieurs adénopathies, souvent cervicales ou axillaires.

On peut réaliser un prélèvement ganglionnaire puis réaliser des frottis et des empreintes de ce ganglion. Les lames seront colorées au Ziehl puis observées à l'objectif 100 à la recherche de bacilles acido-alcoolorésistants.

La sensibilité de cette technique est faible, surtout si le ganglion n'est pas fluctuant. On peut conserver un ganglion dans du Bouin et l'envoyer à un laboratoire d'anatomie pathologique. On peut aussi mettre en culture.

### **TUBERCULOSE ARTICULAIRE**

La tuberculose articulaire la plus fréquente est la tuberculose du genou.

Elle est suspectée devant une altération de l'état général, avec amaigrissement et antécédents personnels ou familiaux de tuberculose.

On réalise une ponction de liquide articulaire puis on procède à une recherche de bacilles acido-alcoolorésistants après avoir réalisé des frottis colorés par la méthode de Ziehl.

La mise en évidence est inconstante, il est conseillé d'envoyer une partie du liquide de prélèvement dans un tube stérile à un laboratoire pouvant réaliser une culture de ce liquide (Löwenstein-Jensen).

### **TUBERCULOSE DIGESTIVE**

Les localisations intestinales, hépatique et péritonéales de la tuberculose ont presque disparu en Europe. Elle sont encore retrouvées en Afrique subsaharienne.

L'infection intestinale provient le plus souvent de bacilles ingérés et touche préférentiellement la région iléo-cæcale. L'infection hépatique est souvent associée à une tuberculose miliaire. La tuberculose péritonéale est souvent associée aux formes intestinales ou hépatiques.

Clinique :

Sténose du grêle, troubles de transit, masse de la fosse iliaque, IDR positive, radiologie explicite ...

Diagnostic biologique :

Sans culture, il est très difficile pour une tuberculose intestinale ou hépatique. En cas de suspicion de tuberculose péritonéale :

Pratiquer un prélèvement d'ascite puis se reporter au diagnostic étiologique d'un épanchement d'ascite.

### **TUBERCULOSE MILIAIRE**

Diffusion tuberculeuse hémotogène donnant lieu à une dissémination de micro-nodules dans l'organisme. Le pronostic est très sombre.

État septicémique, hyperthermie (40°C), asthénie, troubles digestifs et respiratoires, éventuellement splénomégalie. Évolution en insuffisance respiratoire, polypnée, cyanose...

Signes biologiques : Pancytopénie, la recherche des bacilles tuberculeux est peu fructueuse à l'exception du LCR (voir les méningites), le diagnostic est surtout radiologique.

Quelques photographies :



*TB cutanée végétante*



*Écrouelles*



*Lupus tuberculeux*

## DIAGNOSTIC D'UNE MYCOBACTERIOSE ATYPIQUE

Les mycobactérioses atypiques peuvent être rapidement séparées en deux groupes :

- Les mycobactérioses associées à l'infection VIH (*M. avium intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*)
- Mycobactérioses cutanées : ulcère de Buruli à *Mycobacterium ulcerans*.

## MYCOBACTERIOSES ATYPIQUES ASSOCIEES AU VIH

Nous parleront essentiellement de l'infection à MAC (*M. avium intracellulare*), la plus fréquente. Il s'agit aussi du germe le plus fréquemment isolé lors des infections bactériennes systémiques lors du SIDA (incidence variable selon les publications entre 50 et 98 %, avec une infection disséminée diagnostiquée dans environ 20-25% en pre mortem et près de 50% en post mortem suggérant ainsi un pourcentage élevé de non-détection).

C'est une infection tardive dans le processus de délabrement immunitaire causé par le SIDA (CD4 inférieurs à 50 / mm<sup>3</sup>), les patients ont généralement déjà contracté une ou plusieurs infections opportunistes.

**Clinique** : aspects cliniques variables, nombreux et peu spécifiques.

- Infections systémiques : altération de l'état général, perte de poids, fièvre, frissons, sueurs nocturnes, diarrhée, anorexie. En l'absence d'autres infections (pneumocystose, CMV, toxoplasmose, lymphomes ...) on doit penser à une infection à MAC.
- Atteintes respiratoires : dyspnées, insuffisance respiratoire, inconstant
- Atteintes digestives : diarrhée fréquente, hépatomégalie, ictère
- Autres atteintes plus rares : neurologiques, cutanées, hématopoïétique.

#### Diagnostic biologique :

Le diagnostic est fait uniquement par culture. Différents prélèvements peuvent être pratiqués : sang, urine, selles, sécrétions respiratoires, moelle, biopsie d'organe ...

Le meilleur rendement est obtenu par hémoculture. Il faut donc procéder à un envoi de prélèvements à un laboratoire pratiquant ce genre de culture très spécialisée.

#### Traitement :

- Prophylactique : rifabutine, clarithromycine
- Curatif : association clarithromycine / ethambutol

### ULCERE DE BURULI

L'ulcère de Buruli est une maladie caractérisée par de vastes ulcérations cutanées qui évoluent le plus souvent vers des séquelles invalidantes.



#### Epidémiologie :

C'est la troisième mycobactériose la plus fréquente dans le monde, après la tuberculose et la lèpre. Les foyers endémiques sont souvent situés près de marécages, de lacs, de cours d'eau, de barrages hydroélectriques et des exploitations hydroagricoles. Les zones rurales sont les plus touchées et en particulier les enfants. La pathologie est due à la sécrétion d'une toxine responsable de la nécrose de la graisse sous-cutanée, à l'origine des délabrements. Il n'y a pas de preuve de contamination

interhumaine par *M. ulcerans*, à réservoir tellurique.

#### Clinique :

Evolution en trois phases :

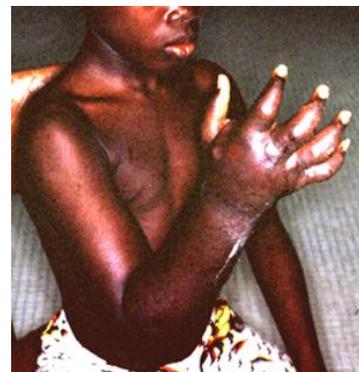
- une phase de début, pré-ulcérate, avec une lésion initiale à type de nodule, de placard ou d'œdème non inflammatoire :



*Nodule débutant*



*Placard débutant*

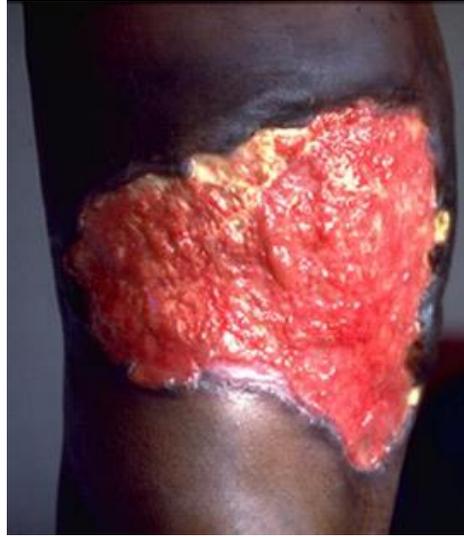


*Œdème débutant*

- une phase d'ulcération :



*Ulcère de la main*

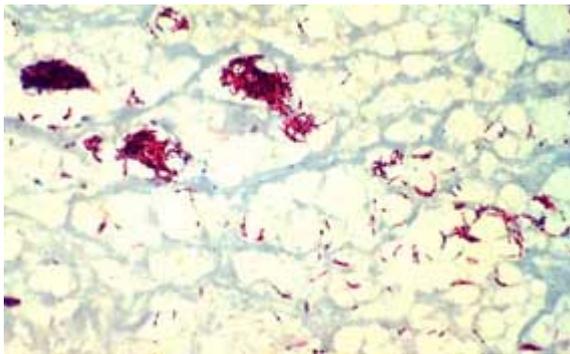


*Ulcère du flanc*

- une phase de cicatrisation lente

L'évolution est longue, de 6 mois à 36 mois, émaillée de surinfections et de dénutrition. Les séquelles sont invalidantes, fréquentes et définitives, mais d'apparition plus rapide que celles de la lèpre.

Le diagnostic biologique est primordial, car il permet de réaliser immédiatement une petite exérèse au lieu d'avoir recours plus tard à une chirurgie bien plus lourde.



**Diagnostic biologique :**

Outre l'aspect clinique évocateur, on peut réaliser un prélèvement de plaie, l'étaler sur lame puis rechercher des bacilles acido-alcoolo résistants par la coloration de Ziehl.

*Mycobacterium ulcerans (Ziehl-Nielsen)*

**Prévention et traitement :**

Il n'y a pas de moyen de prévention, ni de traitement médicamenteux, le seul traitement actuellement efficace est la chirurgie, indiquée à tous les stades de la maladie, de préférence la plus précoce possible :

- nodule ou petit placard : exérèse suivie de suture
- œdème, placard étendu, ulcération ou séquelles : chirurgie réparatrice

**DIAGNOSTIC D'UNE LÈPRE**

La lèpre, ou maladie de Hansen (1873), est une maladie infectieuse chronique atteignant strictement l'homme et qui atteint surtout la peau et les nerfs périphériques.

Le bacille de Hansen (*Mycobacterium leprae*) fait partie des mycobactéries, tout comme la tuberculose. Ce sont des maladies à évolution lente.

**Épidémiologie :**

Le bacille pénètre dans l'organisme probablement par la peau et les muqueuses des voies respiratoires et se propage ensuite le long des nerfs périphériques. La contamination est surtout inter humaine. Le nombre de cas recensés était inférieur à 1 million en 1995 (il était de 1,5 million environ en 1994), soit 1,67 cas pour 10 000 personnes.

Un nouveau cas de lèpre sur deux concerne une personne de moins de 20 ans. Les facteurs favorisants sont les mauvaises conditions d'hygiène, la promiscuité, la malnutrition et le climat tropical.

## Clinique :

Primo-infection inapparente, guérissant spontanément dans la majorité des cas.  
Incubation variable, de quelques mois à 10 ans puis passage à une forme de lèpre dite indéterminée.  
L'évolution vers l'une ou l'autre des formes de lèpre est soit spontanée, soit sous l'influence d'un traitement.

On distingue :

### La lèpre indéterminée (initiale)

- Les premiers signes de la lèpre sont habituellement cutanés: macules ou plaques hypopigmentées ou hyperpigmentées.
- Ces macules sont parfois insensibles, mais la sensibilité est souvent conservée dans les lésions précoces au niveau de la face.
- Un traitement précoce à ce stade permet une guérison sans séquelles.

**La lèpre tuberculoïde** : peu de bacilles retrouvés, c'est une forme de lèpre où les atteintes nerveuses sont les plus importantes.

- Les lésions cutanées se traduisent par des macules souvent dépigmentées, au niveau desquelles la sensibilité thermique et douloureuse a disparu. Ultérieurement, les lésions s'agrandissent et leurs limites sont surélevées, tandis que les éléments normaux de la peau (glandes sudoripares, follicules pileux) disparaissent.
- L'atteinte nerveuse est importante et douloureuse. Elle survient précocement et se traduit par un épaississement des nerfs, qui augmentent de volume. Des troubles sensitifs au niveau des extrémités apparaissent. L'atteinte nerveuse provoque une atrophie musculaire qui touche surtout les muscles de la main ("griffe lépreuse") avec parfois ulcération, ostéolyse et pertes de phalanges. L'atteinte des nerfs faciaux peut provoquer des ulcérations cornéennes et conduire à la cécité. Sans traitement, cette forme de lèpre aboutit à la grande lèpre mutilante.



Lèpre tuberculoïde

**La lèpre lépromateuse** : beaucoup de bacilles retrouvés  
C'est une lèpre sévère et très contagieuse avec atteinte de l'état général. Elle se caractérise par des lésions cutanées importantes: macules, nodules, plaques ou papules. Les lésions sont mal limitées, elles sont extensives, diffuses, symétriques et bilatérales. La peau et les muqueuses (surtout nasale) apparemment normales renferment des bacilles mis en évidence par des frottis. Les lésions siègent surtout sur la face, où la peau est épaissie, aux poignets, aux coudes, aux chevilles et aux genoux. Elles

s'accompagnent de rhinites voire d'atteinte pharyngée et d'atteinte cornéenne. Les nerfs périphériques sont massivement infectés, mais sont moins lésés que dans la lèpre tuberculoïde. Atteinte du foie, de la rate, des ganglions lymphatiques et des testicules.

Sans traitement, évolution vers la mort en 5-6 ans par cachexie, amylose viscérale ou septicémie intercurrente.

### Les formes intermédiaires :

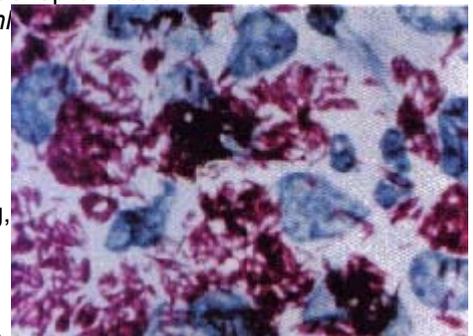
Les formes intermédiaires (lèpre borderline), mixtes ou indéterminées peuvent évoluer soit vers la lèpre lépromateuse en l'absence de traitement, soit vers la lèpre tuberculoïde au cours du traitement.

**Diagnostic biologique** : observation des bacilles uniquement au stade lépromateux.

*Globis lépreux, Ziehl*

Le diagnostic de la lèpre est fondé sur l'étude de biopsies cutanées obtenues au niveau des lésions et de frottis de prélèvement de nez qui révèlent souvent des bacilles acido-alcoolo-résistants. On les met en évidence par coloration de Ziehl (coloration rouge sur fond bleu).

- On observe des bacilles à bouts arrondis de 1 à 8 µm de long, sur 0.3-0.5 µm de large.
- Ils sont colorés de façon homogène et se regroupent souvent en globi lépreux en forme de ballon de rugby.
- Une coloration hétérogène voire granuleuse est le signe de la



mort du ou des bacilles.

La lépromine est une suspension préparée à base de bacille de Hansen inactivé. L'injection intradermique de lépromine (réaction de Mitsuda) entraîne une réaction papuleuse caractéristique au bout de trois à quatre semaines dans la forme tuberculoïde. La réaction est toujours négative dans la forme lépromateuse. Le bacille de la lèpre n'est pas cultivable en laboratoire, un sérodiagnostic permet aujourd'hui de détecter les antigènes de surface spécifiques du bacille de Hansen avant même l'apparition des signes cliniques. Son coût le réserve hélas aux pays industrialisés.

#### **Traitement :**

Outre la chimiothérapie antimicrobienne, la prise en charge de la lèpre nécessite une approche multidisciplinaire : ophtalmologie, chirurgie orthopédique et rééducation. La chimiothérapie prolongée (quelque fois à vie) est à base de sulfones, de sulfamides et de rifampicine :

- La dapsons  
Médicament bon marché, la dapsons est l'une des principales sulfones utilisées dans le traitement de la lèpre. La résistance primaire est rencontrée chez 30 % des personnes sans traitement préalable. Une résistance secondaire peut se manifester chez 2 à 30 % des personnes traitées.
- La rifampicine  
C'est un médicament antituberculeux. Il est utilisé comme traitement de la lèpre sous forme de dose unique par voie orale (1 500 mg).
- La clofazimine  
C'est un médicament très lipophile qui s'accumule particulièrement dans la peau et le tube digestif. Il est habituellement prescrit à la dose de 50 à 200 mg par jour.
- On peut aussi utiliser des sulfamides (Sulfapyrazine), des thiorées ou des antituberculeux comme l'éthionamide et l'éthambutol.

#### **Associations thérapeutiques :**

- Un traitement combinant les trois médicaments (dapsons 2 ans, rifampicine 6 mois, clofazimine 2 ans) est préconisé pour les formes multibacillaires (lépromateuse, lépromateuse borderline).
- Dans le cas des lèpres tuberculoïdes, une association rifampicine / dapsons pendant 6 mois est suffisante.
- Dans tous les cas résistants, on peut effectuer un "antibiogramme" par inoculation à souris nude traitées ou non par antibiotiques (réservé à des laboratoires très performants) ou encore renforcer l'immunité par des injections bimensuelles de BCG pendant 2 ans.
- Une réaction au traitement est fréquente : érythème noueux, fièvre, arthralgies. Un changement de type de lèpre est aussi souvent noté.

#### **Les autres mesures thérapeutiques**

Les difformités et les incapacités provoquées par la lèpre peuvent être prévenues et/ou traitées. Des chaussures orthopédiques, des plâtres de marche permettent d'éviter les ulcérations des pieds. Des séances de rééducation et le port d'attelles pallient les contractures des mains. La chirurgie réparatrice, notamment faciale, est parfois nécessaire.

#### **Prophylaxie :**

- Dépistage scolaire
- BCG et couverture par dapsons des enfants évoluant en milieu lépreux.

## **AUTRES DIAGNOSTICS BIOLOGIQUES**

### **DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA CAUSE D'UNE DIARRHÉE OU D'UNE DÉSHYDRATATION**

#### **Avertissement :**

Les diarrhées seront ici traitées dans le cas d'une personne immunocompétente. En cas d'immunodépression, se reporter au chapitre concerné. Il ne faut cependant pas oublier qu'une diarrhée importante et prolongée peut être un des premiers signes cliniques du SIDA.

### Incidence des diarrhées :

- 750 millions de cas par an chez l'enfant de moins de 5 ans
- 3 à 6 millions de décès par an chez l'enfant de moins de 2 ans

### Classification des diarrhées :

| Type de diarrhée              | Origine possible | Fièvre | Incubation minimum | Signes caractéristiques associés                       |
|-------------------------------|------------------|--------|--------------------|--|
| Muco-sanguinolante            | Amibiase         | -      | 7 jours            | Tenesmes, épreintes,                                   |
| Mastic jaune                  | Giardiase        | -      | 4-8 jours          | Renvois de type "œuf pourri"                           |
| Purulo-sanglante              | Bilharziose      | +      | 3-6 mois           | hyperéosinophilie                                      |
| Gastro-entérite               | Accès palustre   | +      | 7-9 jours          | fièvre, sueurs   |
| Variable                      | Helminthes       | +/-    | Variable           | irritabilité   |
| Gastro-entérite non sanglante | Salmonellose     | +      | 8-72 heures        |  |
| Aqueuse puis purulo-sanglante | Shigellose       | +      | 1-5 jours          |  |
|                               | E. coli          | +/-    | 1-3 jours          |  |
| "eau de riz"                  | Choléra          | -      |                    | Déshydratation aiguë.                                  |
| "tourista"                    | Virus            | +/-    | variable           | Rotavirus, calicivirus, adénovirus, rougeole, hépatite |

### Appréciation de la déshydratation :

- Cliniquement : pli cutané, yeux, larmes, bouche, respiration, pouls, soif, urines, poids précis et fontanelle (chez l'enfant).
- Biologiquement : osmolarité, hématicrite

|              | Minime   | Moyenne      | Grave            |
|--------------|----------|--------------|------------------|
| Diarrhée     | 4/J      | 4-10/J       | > à 10/J         |
| État général | Normal   | Somnolence   | +/- coma         |
| Vomissements | 0        | +            | ++               |
| Soif         | Normale  | +            | Impossible       |
| Urines       | Normales | foncées      | Rien en 6 heures |
| Larmes       | +        | 0            | 0                |
| Yeux         | Normaux  | Enfoncés     | Très enfoncés    |
| Bouche       | Humide   | Sèche        | Très sèche       |
| Respiration  | Normale  | Rapide       | Très rapide      |
| Peau         | Normale  | Pli cutané + | Pli cutané ++    |
| Pouls        | Normal   | Accéléré     | Rapide et faible |

|                |                       |   |  |
|----------------|-----------------------|---|--|
| Fontanelle     | Normale               | Déprimée  | Très déprimée  |
| Perte de poids | < 25 g/Kg             | 25-100 g/Kg                                       | 100 g/Kg   |
| OSMOLARITE     | Normale               | 310-325 meq/l                                     | 325 meq/l  |
| HEMATOCRITE(1) | Normal                | Augmenté  | Très augmenté  |
| EVALUATION     | Pas de déshydratation | 2 signes cliniques =<br>déshydratation<br>modérée | 2 signes cliniques =<br>déshydratation grave<br>= <b>URGENCE</b> |

(1) se reporter aux normales selon l'âge et le sexe.

#### Traitement :

Le traitement de la cause, après diagnostic biologique, est fait après la réhydratation (urgence) : on utilise des antiparasitaires ou des antibiotiques.

Traitement de la déshydratation éventuellement associée :

Voie orale : déshydratation faible à modérée :

- Utilisation de SRO : pour un litre d'eau (de préférence minérale sinon filtrée et bouillie 20 minutes), on ajoute 3.5 g de sel de cuisine, 8 morceaux de sucre, 1.5 g de bicarbonate de soude et 1.5 g de chlorure de potassium.
- Le SRO est généralement fabriqué par le technicien de laboratoire (présence d'une balance et des composants). Il est à noter que l'OMS fabrique des sachets prêts à l'emploi que l'on trouve généralement dans les pharmacies villageoises.

Quantité de SRO à donner selon le poids et l'âge :

| Poids   | Age        | Pas de déshydratation | Déshydratation modérée |
|---------|------------|-----------------------|------------------------|
| 0-5 Kg  | 0-6 mois   | 1200 ml/J             | 400 ml/heure           |
| 6-12 Kg | 18-24 mois | 1200 ml/J             | 700 ml/heure           |
| 12 Kg   | 2-5 ans    | 1600 ml/J             | 900 ml/heure           |
| 12 Kg   | 5 ans      | 2 l/J                 | 0.9 - 2 l/heure        |

Voie IV : déshydratation grave, utilisation de Ringer lactate :

- 0-40 ml/Kg/heure chez l'enfant < 1 an
- 100 ml/kg/3 heures pour les autres
- Puis on prend le relais avec le SRO.

#### Surveillance :

Surveillance clinique et biologique jusqu'à normalisation complète.

### DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UNE INFLAMMATION

Les marqueurs de l'inflammation :

- La vitesse de sédimentation, valeurs normales
- La CRP (Protéine C Réactive)
- L'albumine sérique
- Les plaquettes.
- Le fibrinogène.

Pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueillir un tube sec (CRP et albumine) et un tube sur EDTA (VS et plaquettes)

#### **Différents types d'inflammation :**

- Inflammation aiguë : augmentation de la CRP, puis rapidement de la VS  
Infection aiguë, paludisme, méningite, hémolyse aiguë ...
- Inflammation chronique : augmentation de la VS, éventuellement des plaquettes, diminution faible de l'albumine.  
Infection chronique, amibiase hépatique, trypanosomiase, leishmaniose viscérale, RAA ...
- Inflammation profonde : augmentation de la VS, des plaquettes et du fibrinogène, diminution de l'albumine.  
Infection sévère (tuberculose), vascularites, certains cancers, certaines hémopathies.

La vitesse de sédimentation est aussi élevée dans les anémies, les hépatites, les syndromes néphrotiques, l'insuffisance rénale chronique, les syndromes de dénutrition, les allergies médicamenteuses ... elle peut rester élevée 3 semaines avant de se normaliser doucement.

#### **Estimation du fibrinogène :**

Nous donnons là une méthode fort imprécise, uniquement valable en cas d'hyperfibrinogénémie. Pratiquer un prélèvement de sang veineux et recueillir un tube sur héparine et un autre sans anticoagulant.

Centrifuger les deux tubes à pleine vitesse pendant 5 minutes puis doser les protéines à la lunette réfractométrique sur le sérum et le plasma. La différence entre les deux est théoriquement attribuée au fibrinogène.

En cas de valeurs proches, ne pas tenir compte de cette estimation. Il faut au moins 5 ou 6 g/l d'écart pour attribuer la différence à une hyperfibrinogénémie.

Valeurs normales du fibrinogène : 2 à 4 g/l, hyperfibrinogénémie au delà de 6g/l.

#### **Utilité du bilan inflammatoire :**

- Aide au diagnostic
- Suivi d'une antibiothérapie : lors d'une infection, si l'antibiotique est actif, on assiste à une normalisation de la CRP en 2 jours. Ceci peut être une alternative correcte à l'antibiogramme.
- Suivi d'une pathologie lourde : tuberculose, hémopathie.

## **DIAGNOSTIC D'UNE DÉNUTRITION OU D'UNE MALNUTRITION**



#### **Les carences énergétiques globales : le marasme**

Maladie des pays les plus pauvres ou en état de guerre, la carence énergétique se transforme rapidement en une carence globale : protéique, vitaminique et minérale.

On observe un retard de croissance chez l'enfant, un amaigrissement et une inactivité physique.

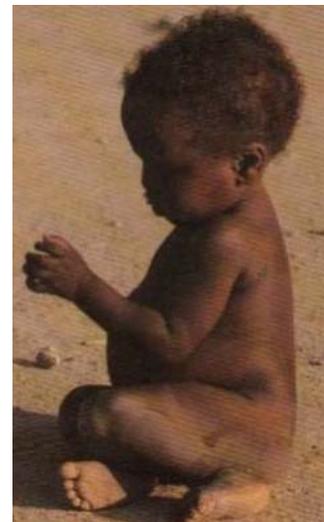
Le diagnostic biologique est inutile, il suffit de se référer aux tableaux des normales de poids et de taille suivant l'âge.

Traitement : supplémentation nutritionnelle (protides, glucides, acides gras, AA essentiels, fer, vitamines ...), tout d'abord parentérale puis, très progressivement orale. De nombreuses organisations urgentistes (MSF, MDM, Enfants du Monde, Première Urgence, Action Contre la Faim ...) sont plus ou moins spécialisées dans ce

domaine.

#### **Les carences protéiques : le Kwashiorkor**

Le terme "kwashiorkor" dérive du mot Ashanti Ghanéen signifiant "l'affection de l'enfant qui n'est plus allaité par la survenue d'une nouvelle naissance". Le Kwashiorkor est d'abord et avant tout la principale manifestation des carences protéiques et l'une des principales maladies par carence alimentaire. Il atteint souvent des enfants âgés entre 1 et 3 ans.



Il est favorisé par :

La pauvreté, les sols pauvres, les naissances rapprochées, les infections intercurrentes (paludisme et surtout la rougeole).

**Cliniquement, on observe :**

Anorexie, apathie, oedèmes, déficit staturo-pondéral, lésions cutanées, fonte musculaire, dépigmentation des cheveux (qui deviennent brun-roux, souvent définitivement), troubles digestifs, ou encore atteinte du système nerveux, hypothermie, déshydratation. On peut aussi noter une immunodépression transitoire, rendant plus sensible aux infections (tuberculose, infections buccales, ORL, cutanées, digestives voire septicémiques)

Le diagnostic clinique est aisé, on peut aussi se référer aux tableaux des normales de poids et de taille suivant l'âge.

**Diagnostic biologique :**

Le diagnostic biologique de Kwashiorkor est inutile. Cependant, le laboratoire peut apprécier l'étendue des troubles, les surinfections associées. Il peut de plus permettre de contrôler l'impact d'un traitement.

Pratiquer un prélèvement de sang veineux et recueillir deux tubes :

- Un sous EDTA, sur lequel on réalisera une numération (GB, GR, plaquettes) formule leucocytaire, un dosage de l'hémoglobine, une mesure de l'hématocrite, un calcul des constantes érythrocytaires, une vitesse de sédimentation et une glycémie.
- Un tube sec sur lequel on réalisera un dosage des protéines totales et un dosage de l'albumine.

Lors d'un Kwashiorkor, on observe :

- Anémie, masquée initialement par une hémococoncentration, modérée au début, puis accentuée par le paludisme, les ankylostomes, la drépanocytose et une carence surajoutée en fer.
- On peut noter une légère thrombopénie, majorée par les accès palustres à répétition et les carences vitaminiques associés.
- Les protéines totales sont diminuées, mais cela peut être marqué par une hémococoncentration. L'albumine est très diminuée, et le rapport albumine / globulines (ou albumine / (protéines totales - albumine)) s'inverse : de 1.2 (normale) il passe en dessous de 1, fréquemment proche de 0.8.
- La VS est très augmentée, traduisant l'inversion du rapport albumine / globulines.
- Une hypoglycémie est de mauvais pronostic

**Traitement :**

- Apport de protéines : jaune d'œuf, poulet, chenilles, lait en poudre, arachides, néré, noix, haricots.
- Correction d'une éventuelle anémie.
- Traitement des infections intercurrentes.

On surveillera la glycémie et la température, surtout les premiers temps. Ensuite, un dosage des protéines de l'albumine et la mesure de la VS aideront à apprécier la diminution des carences, en parallèle à la normalisation des mesures de taille, poids et périmètre crânien et à l'amélioration clinique.

**Les carences Vitaminiques :** description clinique rapide, il y a peu d'exams biologiques réalisables dans les conditions de ce guide

- Les carences en **vitamine A** entraînent un retard de croissance chez l'enfant, des altérations de l'œil et des fonctions visuelles, et des troubles de la reproduction. Le défaut en vitamine A est la principale cause de la cécité des jeunes enfants dans les pays en voie de développement. On trouve maintenant du rétinol dans toutes les pharmacies
- Les carences en **vitamines B** ont globalement les mêmes conséquences que les carences en vitamine A (fatigues générales, vertiges, troubles oculaires, oedème). Les syndromes les plus fréquents sont le béribéri (Asie surtout) entraînant des problèmes cardiaques ou neurologiques, et le pellagre, ou les parties découvertes, nuque, mains, bras, pieds et jambes, en particulier après exposition au soleil, rougissent et deviennent rudes et calleuses
- Les carences en **vitamines C** ont pour principales conséquences le scorbut, entraînant un affaiblissement progressif, la perte des dents, une tendance aux hémorragies (et donc une anémie), des problèmes articulaires

- Le manque de **vitamine D** a pour principale conséquence le rachitisme chez l'enfant et l'ostéomalacie chez l'adulte. On observe une minéralisation insuffisante des os et des cartilages, une hypocalcémie... entraînant des déformations osseuses.
- Les carences en **vitamines E** sont uniquement observées chez le nouveau-nés prématurés et se traduisent par des troubles d'absorption des graisses intestinales et des altérations des muscles et du tissu conjonctif.
- Les carences en **vitamines K** sont responsables d'hémorragies, on les rencontre surtout chez le prématuré.

Mise à part les carences en acide folique qui provoquent anémies et troubles neurologiques, les carences d'apport des autres vitamines sont exceptionnelles chez l'homme.

### **Les carences en substances minérales :**

Carence en iode :

La carence en iode est révélée physiquement par le goitre, hypertrophie compensatrice de la glande thyroïde. Le goitre endémique, qui affecte de façon chronique certaines populations, est encore couramment observé dans les régions du globe de haute altitude. Dans les cas les plus graves, les individus atteints de la maladie subissent des retards de développement mentaux et physiques. La iodation du sel de cuisine permet de faire reculer cette maladie.

Malgré une clinique souvent très évocatrice, on peut doser l'iode sérique. C'est un dosage complexe, utilisant des dérivés arsénieux, des acides et des bases fortes. Il peut avantageusement être remplacé par le dosage des iodures urinaires, effondrés en cas d'insuffisance d'iode.

Carence en fer :

Responsable d'anémies. Fréquent chez les enfants et les femmes enceintes. De même que pour le rétinol, on trouve des comprimés de sulfate de fer et même une association fer-acide folique dans toutes les pharmacies villageoises africaines.

## **DIAGNOSTIC D'UN DIABÈTE**

### **Diabète sucré de type I ou diabète insulino-dépendant.**

Le diabète insulino-dépendant, est une maladie à l'origine d'une destruction des îlots de Langerhans pancréatiques (cellules sécrétant l'insuline) et d'un arrêt progressif de l'insulinosécrétion entraînant une hyperglycémie chronique. Non traité, il évolue vers l'acidocétose.

#### **Clinique :**

Classiquement, pathologie de l'adolescent ou de l'adulte jeune. On trouve les 3 "P" : Polyurie, Polydipsie et Polyphagie. Maigreur et asthénie sont fréquentes. Parfois, le coma diabétique est la manifestation inaugurale de la pathologie.

#### **Dépistage :**

Rechercher la glycosurie à la bandelette urinaire. Si on dispose d'une bandelette avec de nombreux paramètres, on peut aussi regarder la cétonurie, la protéinurie et la leucocyturie ainsi que la densité urinaire. Noter tous les résultats.

En cas de diabète, on trouve une glycosurie positive avec des traces de corps cétoniques. En cas de coma, les corps cétoniques seront retrouvés en grande quantité.

#### **Diagnostic biologique :**

Glycémie : pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueilli sans anticoagulants. Pratiquer un dosage du glucose. On trouve une glycémie à jeun supérieure à 1,4 g/l (7,7mmol/l) à 2 reprises, à 1 semaine d'intervalle.

Test de l'HyperGlycémie Provoquée par voie Orale : on effectue une charge de 75 g de glucose (ou 15 morceaux de sucre) par voie orale. On dose la glycémie 2 heures après la charge. En cas de diabète insulino-dépendant, on trouve une glycémie supérieure à 2 g/l.

Des examens plus complexes (anticorps, insuline, test au glucagon, HbA1c ...) ne sont réellement utiles au diagnostic, car les signes cliniques, l'hyperglycémie, la tendance à la cétonurie sont des éléments généralement suffisants pour le diagnostic.

#### **Traitement :**

Insuline injectable (sous-cutané). On trouve de nombreuses insulines en générique. Attention à la chaîne du froid pour l'insuline et aux surinfections locales pouvant résulter d'une injection septique.

### **Coma diabétique acido-cétosique :**

Signes cliniques et biologiques d'apparition aiguë, en rapport avec une carence profonde en insuline chez le diabétique de type 1. L'altération de la conscience qui en résulte est un phénomène tardif, précédé par des douleurs abdominales, une polyurie et une polydipsie à l'origine d'une déshydratation. C'est une urgence thérapeutique.

Le plus souvent, ces signes de gravité qui apparaissent chez un diabétique connu, orientent vers un coma acido-cétosique. Le problème subsiste lorsque ce coma est la manifestation inaugurale du diabète.

Diagnostic biologique :

Pratiquer un prélèvement d'urine et de sang veineux, recueilli sans anticoagulants. Rechercher les corps cétoniques (technique classique ou bandelette urinaire) et le glucose dans l'urine, doser le glucose, l'urée, la créatinine et les protéines dans le sérum. On peut aussi réaliser une hémocrite (prélèvement de sang capillaire).

On trouve une glycémie > 3 g/l, les protéines et l'hémocrite élevés par déshydratation, l'urée et créatinine augmentés par insuffisance rénale fonctionnelle. Il y a souvent une acidose métabolique (pH < 7.3) avec diminution des bicarbonates.

Dans l'urine, on obtient : glycosurie : +++ et corps cétoniques : +++

Remarque : la présence de corps cétoniques dans les urines chez un diabétique sans glycosurie témoigne d'une cétose de jeûne et non d'une acidocétose.

**Traitement** : réservé normalement à un personnel formé.

Insuline IV. Attention, il y a un fort risque d'hypokaliémie suite à l'injection d'insuline. On recommande donc d'ajouter du chlorure de potassium. Injection de bicarbonates pour rééquilibrer le pH.

### **Diabète sucré de type II ou non insulino-dépendant :**

Diabète sucré le plus fréquent, il correspond à une hyperglycémie chronique dont l'origine est complexe (insulinorésistance entre autre) ; il n'évolue pas vers l'acidocétose. Il s'accompagne souvent d'une surcharge pondérale et se retrouve généralement chez l'adulte > 45 ans.

**Dépistage** :

Pratiquer un prélèvement d'urine et de sang veineux, recueilli sans anticoagulants. Rechercher les corps cétoniques (technique classique ou bandelette urinaire) et le glucose dans l'urine, doser le glucose dans le sérum. On trouve une glycémie > à 1,4 g/l (7,7mmol/l) ou une glycosurie : ++

**Diagnostic biologique** :

Persistance de l'hyperglycémie > 1,4 g/l sur plusieurs dosages au moins distants d'une semaine, glycosurie retrouvée sur plusieurs contrôles, absence de corps cétoniques dans les urines malgré une glycosurie positive.

**Traitement** :

- Régime alimentaire
- glibenclamide (sulfamide hypoglycémiant), metformine (biguanide), insuline en fin d'évolution.

### **Complications du diabète :**

- Microangiopathies : rétinopathies, maladies rénales : protéinuries, pyélonéphrite aiguë, insuffisance rénale.
- Macroangiopathies : thromboses, infarctus
- Tendance aux infections, aux mycoses
- "pied diabétique"
- ...

## **DIAGNOSTIC ET SURVEILLANCE D'UNE DYSCALCÉMIE**

Pour explorer une dyscalcémie, on pratique tout d'abord un prélèvement de sang veineux, recueilli sans anticoagulants puis on dose le calcium.

- Valeur normale de la calcémie : 2.25 - 2.65 mmol/l
- Valeur normale de la calciurie : Homme : 2,5 à 7,5 mmol/24 h. Femme : 2 à 5 mmol/24 h. Enfant : < 0,13 mmol/kg/24 h.

Exploration des hypercalcémies : asthénie, torpeur, polyurie, anorexie, lithiases...

- Hyper-parathyroïdie
- Métastases osseuse d'un cancer, myélome multiple
- Hypervitaminose D
- Sarcoidoses

Exploration des hypocalcémies : souvent associé à des crises de tétanie (si  $< 1.75$  mmol/l).

- Rachitisme (carence en vitamine D), ostéomalacie
- Hypo-parathyroïdie
- Alcalose sanguine : hyperventilation, altitude, vomissements, bicarbonates par voie veineuse.
- Malabsorption, insuffisance pancréatique grave

## DIAGNOSTIC D'UNE INSUFFISANCE HÉPATIQUE

### Signes cliniques :

- asthénie et ictère.
- manifestations cutanées (angiomes stellaires, érythrose palmaire)
- manifestations endocriniennes : chez l'homme, une diminution de la pilosité, une gynécomastie et une impuissance, chez la femme, une atrophie mammaire, une aménorrhée, une stérilité
- syndromes hémorragiques (ecchymoses, hémorragies gingivales ou nasales, parfois un purpura)
- infections.
- lors d'une insuffisance hépatique sévère, on observe une encéphalopathie hépatique :
  - au début, troubles de la conscience (modifications du sommeil, apathie avec lenteur d'idéation), puis des troubles du comportement, détérioration intellectuelle.
  - à la fin, coma calme, de profondeur variée, sans signe de localisation.

Les deux principales causes sont les hépatites cytolytiques aiguës (virales, toxiques, médicamenteuses et ischémiques) et les cirrhoses : fibroses hépatiques dont la cause la plus fréquente est l'alcoolisme, cependant, les autres causes, virales et médicamenteuses, doivent être recherchées.

### Signes biologiques :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueilli sans anticoagulant. Puis réaliser :

- un dosage de la bilirubine (libre et conjuguée)
- un dosage de l'urée
- un dosage des protéines totales et de l'albumine
- une estimation globale de la coagulation
- un dosage de la CRP et une mesure de la vitesse de sédimentation

On observe :

- une diminution de la coagulation globale, non corrigée par l'injection de vitamine K : diminution de synthèse des facteurs de coagulation.
- une diminution de la concentration sérique de l'albumine et une augmentation de la vitesse de sédimentation.
- une augmentation de la concentration sérique de la bilirubine, spécialement conjuguée.
- En cas d'insuffisance hépatique importante, on observe une diminution de l'urée (diminution des capacités hépatiques de synthèse).

En cas d'éthylisme, on peut aussi observer une thrombopénie et une augmentation du VGM.

Les infections bactériennes en rapport avec une diminution de défense sont fréquentes chez les patients atteints d'insuffisance hépato-cellulaire. Elles peuvent être responsables de septicémie (due à des germes variées, bacilles Gram négatif d'origine intestinale, pneumocoque...) ou d'infection du liquide d'ascite. Une augmentation franche de la CRP sera observée.

Un malade atteint d'insuffisance hépatique doit être évacué vers un centre de plus grosse importance.

## DIAGNOSTIC D'UN ICTÈRE ET D'UNE CHOLESTASE

L'ictère ou "jaunisse" est une soit hépatopathie ou soit une conséquence d'hyper hémolyse, se traduisant cliniquement par un jaunissement des téguments et un prurit. Dans certains cas, on peut observer des urines sombres, des selles décolorées, voire même une altération de l'état général. Une des étiologies les plus fréquente des ictères à bilirubine conjuguée est la cholestase : obturation de tout ou partie des voies biliaires.

On observe 2 types d'ictères :

- à bilirubine libre (non conjuguée)
- à bilirubine conjuguée, traduisant une cholestase

Attention : l'augmentation isolée et intermittente de la bilirubine non conjuguée, sans signe d'hémolyse, se rencontre chez 2 à 5% de la population (maladie de Gilbert).

De plus, dans les zones d'endémie du paludisme, il faut faire attention à l'hémolyse pouvant provenir d'un accès palustre et non d'une pathologie hépatique).

### ICTÈRES A BILIRUBINE LIBRE

#### Clinique :

L'ictère est modéré, sans prurit, et les urines sont claires car seule la bilirubine conjuguée hydrosoluble peut passer dans l'urine. Cependant, en cas d'hémolyse aiguë, elles sont de couleur rouge-porto. Les selles sont normales ou orangées.

#### Biologie :

Pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueillir un tube sans anticoagulant et un tube avec EDTA.  
Pratiquer :

- une numération des hématies et des réticulocytes
- un hématoците
- un dosage de l'hémoglobine et un calcul des constantes érythrocytaires
- un dosage de la bilirubine (libre et conjuguée).

Recherche d'une anémie régénérative.

Bilirubinémie libre augmentée.

Attention : le jeûne et l'effort physique augmentent la bilirubinémie et inversement la prise de phénobarbital diminue le taux par induction enzymatique.

Si l'on dispose d'un moyen de doser les transaminases et les phosphatases alcalines (non abordé dans ce guide), on les retrouvera normales : il n'y a pas de cholestase.

### Etiologies congénitales

- L'hémolyse.
- Maladie de Gilbert. Déficit partiel du mécanisme de conjugaison. Sans gravité.

### Formes acquises

- Accidents de transfusion et incompatibilité fœto-maternelle.
- Immunologiques par auto-anticorps
- Toxiques : Médicaments, venins, champignons.
- Infectieux : septicémie ( Staphylocoques, Gram -, Clostridium, leptospirose)
- Paludisme.

### ICTÈRES A BILIRUBINE CONJUGUÉE

Élévation exclusive ou dominante de la bilirubine conjuguée.

#### Clinique :

Très variable suivant l'étiologie. Urines foncées, décoloration des selles. Prurit, bradycardie.

**Biologie :**

Pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueillir un tube sans anticoagulant et un tube avec EDTA.

Pratiquer :

- une numération des hématies et des réticulocytes
- un hématoците
- un dosage de l'hémoglobine et un calcul des constantes érythrocytaires
- un dosage de la bilirubine (libre et conjuguée)
- un dosage des protéines totales et de l'albumine
- une estimation globale de la coagulation
- un dosage de la CRP et une mesure de la vitesse de sédimentation

Recherche d'une anémie régénérative.

Bilirubinémie totale et conjuguée augmentée.

Recherche d'une inflammation : VS et CRP élevées.

Recherche d'une insuffisance hépatique : diminution des protéines, surtout de l'albumine.

Si l'on dispose d'un moyen de doser les transaminases et les phosphatases alcalines (non abordé dans ce guide), on les retrouvera augmentées, traduisant la cytolysse induite par la cholestase.

**Cholestase extra-hépatique**

Lithiase biliaire.

Cancers : tête du pancréas, des voies biliaires, du foie.

Inflammation du sphincter d'Oddi, sténose des vois biliaires

Pathologie de voisinage ( tuberculose, cancer ).

Ascariodose, distomatoses hépatiques, hydatidose

**Cholestase intra-hépatique**

Cancer hépatique I et II

Cirrhose biliaire primitive.

Cirrhoses, stéatose, amylose.

Certains médicaments responsables d'hépatites toxiques

Formes cholestasiques de toutes les hépatites aiguës ou chroniques.

Hémopathies.

**ORIENTATION DIAGNOSTIQUE EN CAS D'HÉPATITE SUSPECTÉE**

Il existe différents types d'hépatites :

- virales
- toxiques : médicaments, venins, champignons

**HEPATITES VIRALES**

**Les modes de contamination sont:**

- Pour le virus A: contamination oro-fécale.
- Pour le virus B: contamination essentiellement par voie sexuelle et par voie parentérale (toxicomanie intraveineuse). Carte de la prévalence de l'hépatite B. Dans les pays en développement, la transmission mère-enfant est importante. Se reporter au chapitre concernant les examens à effectuer chez la femme enceinte
- Pour le virus C: contamination par voie sanguine (patients ayant reçu du sang et des dérivés de sanguins non contrôlés) et par toxicomanie intraveineuse. Dans un tiers des cas environ, le mode de contamination ne peut être précisé. La contamination par voie sexuelle et la transmission mère-enfant sont faibles, de 0 à 5 % (fonction de la charge virale).
- Pour le virus delta: contamination essentiellement par toxicomanie intraveineuse et uniquement en coinfection avec le virus B.
- Pour le virus E: contamination oro-fécale, limitée à certains pays.

- Les virus G viennent d'être identifiés: contamination essentiellement parentérale, ces virus paraissent très répandus et peu pathogènes.

L'incubation est de 15 à 45 jours pour le virus A, 50 à 150 jours pour le virus B, 30 à 100 jours pour le virus C, 15 à 90 jours pour le virus E.

#### **Signes cliniques des hépatites virales aiguës :**

Les signes cliniques de la phase pré-ictérique de l'hépatite virale aiguë sont le plus souvent la céphalée, l'asthénie, l'anorexie, la fièvre, un syndrome pseudo-grippal plus rarement des arthralgies, des myalgies, des nausées, une gêne de l'hypocondre droit, un foie sensible à la palpation, une éruption cutanée. Elle passe souvent inaperçue.

En cas d'hépatite virale aiguë bénigne :

Ictère d'intensité variable, les urines foncées, les selles normales ou décolorées, le prurit (très inconstant), auxquels s'associent au début les signes de la phase pré-ictérique. Lorsque l'ictère s'installe, la fièvre disparaît. L'ictère dure 2 à 6 semaines, ainsi que l'asthénie, qui peut cependant persister plus longtemps.

En cas d'hépatite virale aiguë fulminante :

Encéphalopathie caractérisée par une inversion du rythme du sommeil et un syndrome confusionnel associée à une diminution globale de la coagulation.

En cas d'hépatite chronique :

Les signes cliniques sont habituellement faibles (asthénie) ou absents. En fin de maladie et sans traitement (ou en cas de non-réponse), on a un tableau d'insuffisance hépatique

#### **Signes biologiques des hépatites virales :**

Sérologies :

Le diagnostic de l'hépatite A est généralement inutile en zone tropicale, où une grande partie de la population est immunisée dès le plus jeune âge.

Le problème subsiste cependant pour les hépatites B et C. L'hépatite B est une MST et il y a beaucoup de co-infections hépatite B / VIH.

De nombreuses analyses ne sont pas accessibles à tous les laboratoires, généralement la réalisation des sérologies est effectuées par les centres de transfusion sanguine. Dans certains cas, le laboratoire peut disposer de kits de diagnostic de l'hépatite B (de type "savonnette", sur bandelette ou d'autres supports) ne nécessitant pas l'achat de matériel coûteux mais pouvant rapidement périmer. La meilleure des solutions consiste en l'envoi de prélèvements : on réalisera un prélèvement de sang veineux recueilli sans anticoagulant que l'on centrifugera et décantera. Le sérum sera envoyé congelé à un laboratoire de référence en respectant la chaîne du froid.

On demande généralement :

- Devant une suspicion d'hépatite aiguë : l'antigène HBs et l' IgM anti HBc
- Devant une suspicion d'hépatite chronique : antigène HBs et l'anticorps anti-VHC.

Si des marqueurs reviennent positifs, il faudra confier le patient à un centre de plus grande importance.

Autres perturbations biologiques :

- Dosage de la bilirubine : élévation, spécialement de la fraction conjuguée.
- On peut observer un syndrome mononucléosique lors de la lecture de la formule leucocytaire.
- Pour les laboratoires pouvant doser les transaminases (non abordé dans ce guide), élévation franche (phase aiguë) ou faible (phase chronique).

## **HÉPATITES TOXIQUES**

On peut aussi observer des hépatites toxiques, essentiellement médicamenteuses.

Deux mécanismes sont à l'origine des effets toxiques :

- Toxicité propre du principe actif ou de ses métabolites. Dose-dépendant.
- Toxicité propre à chaque individu. Non dose-dépendant.

On peut observer une cytolyse, avec des lésions comparables à celles d'une hépatite virale, mais sans syndrome infectieux, ainsi qu'une cholestase intra-hépatique (thrombose).

Dans tous les cas, il y a une notion de prise médicamenteuse.

Le traitement est simple : il suffit d'arrêter la prise du médicament incriminé.

|                       | <b>TOXICITÉ PROPRE</b>  | <b>HYPERSENSIBILITÉ</b>  |
|-----------------------|---|--|
| <b>CYTOLYTIQUES</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• isoniazide</li> <li>• paracétamol</li> <li>• aspirine</li> <li>• méthotrexate</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• halotane</li> <li>• méthyldopa</li> <li>• nitrofurantoïne</li> <li>• pénicillines</li> <li>• acide valproïque</li> </ul>                            |
| <b>CHOLESTATIQUES</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• méthyltestostérone</li> <li>• Oestroprogestatifs</li> </ul>                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• chlorpromazine</li> <li>• érythromycine</li> <li>• phénitoïne</li> <li>• phénindione</li> <li>• benzylthiouracile</li> <li>• carbimazole</li> </ul> |

A côté de ces hépatites médicamenteuses, on peut retrouver des hépatites toxiques liées à des morsures de serpent ou à la consommation de certains champignons.

## **DIAGNOSTIC D'UNE INSUFFISANCE RENALE**

Trois types d'insuffisances rénales peuvent être distinguées :

- Insuffisance rénale aiguë fonctionnelle
- Insuffisance rénale aiguë organique
- Insuffisance rénale chronique

### **INSUFFISANCE RENALE AIGUË (IRA) FONCTIONNELLE**

Diminution de la perfusion rénale efficace entraînant une baisse de la filtration glomérulaire avec comme conséquence une oligurie, et, si elle est sévère et prolongée, un risque de nécrose tubulaire réalisant alors une insuffisance rénale aiguë organique. Les causes sont variées, allant de la déshydratation à la surcharge hydrosodée.

#### **Examens d'orientation :**

- Urée et créatinine plasmatiques : augmentées mais l'augmentation de l'urée est plus importante que celle de la créatinine.
- Calcémie : typiquement normale
- NFS : pas d'anémie secondaire à l'insuffisance rénale puisqu'il s'agit d'une insuffisance rénale aiguë mais anomalies possibles selon cause (choc hémorragique...).
- Protéinurie, sédiment urinaire sont le plus souvent normaux.

#### **Examens de confirmation :**

- Concentration urinaire élevée : osmolarité supérieure à 500 mOsm/kg d'eau.
- Rapport des concentrations d'urée urinaire sur urée plasmatique supérieur à 10.
- Rapport des concentrations de créatinine urinaire sur créatinine sanguine supérieur à 15.

### **INSUFFISANCE RENALE AIGUË ORGANIQUE**

Diminution rapide de la filtration glomérulaire, d'apparition ou d'aggravation récente, sans obstacle sur les voies urinaires ni caractère fonctionnel. La diurèse est le plus souvent diminuée. Les mécanismes en sont très variés mais dominés par la nécrose tubulaire aiguë. Les causes sont multiples.

#### **Examens d'orientation :**

- Urée et créatinine plasmatiques : augmentées de façon proportionnelle.
- Calcémie : typiquement normale

- NFS : l'anémie est possible (selon l'étiologie) mais n'est pas liée à l'insuffisance rénale.

#### Examens de confirmation :

- osmolarité urinaire faible, inférieure à 350 mOsm/kg d'eau.
- Rapport des concentrations d'urée urinaire sur urée plasmatique inférieur à 5.
- Rapport des concentrations de créatinine urinaire sur créatinine plasmatique inférieur à 10.
- D'autres examens peuvent être indispensables ; par exemple, dans les glomérulopathies une protéinurie avec ou sans hématurie est fréquemment rencontrée.

#### INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE (IRC)

Diminution chronique de la filtration glomérulaire secondaire à une altération plus ou moins intense mais non réversible du parenchyme rénal. Nombreuses causes (vasculaires, glomérulaires, interstitielles). Les anomalies métaboliques en dehors de l'augmentation de l'urée et de la créatinine se voient surtout lorsque la clairance de la créatinine est inférieure à 50 ml/min.

#### Examens d'orientation :

- Urée et créatinine : augmentation proportionnelle, baisse de la clairance de la créatinine en dessous de 80 ml/min.
- Calcémie abaissée, sauf s'il existe une déshydratation extracellulaire ou une hyperparathyroïdie secondaire.
- NFS : anémie normochrome normocytaire arégénérative.

#### Examens de confirmation :

Il s'agit surtout d'un faisceau d'arguments confirmé par la chronicité des signes cliniques et biologiques.

A titre d'illustration, voici le résumé d'un article paru en Décembre 1997 dans la revue Cahiers/Santé :

#### Épidémiologie de l'insuffisance rénale chronique sévère au Burkina Faso:

Une analyse rétrospective des patients hospitalisés à Ouagadougou a permis d'identifier 174 cas d'insuffisance rénale chronique sévère (créatininémie > 650 mol/l ou urée > 35 mmol/l). Il s'agissait de 110 hommes et 64 femmes âgés de  $36 \pm 15$  ans. Les antécédents connus étaient une hypertension artérielle dans 53 cas, un diabète dans 3 cas et une goutte dans 3 cas. Les symptômes les plus fréquents ont été la dyspnée (55,2 % des cas), l'asthénie (78,2 %), les vomissements (63,2 %) , les œdèmes (66,1 %). La prévalence de l'hypertension artérielle était de 64,9 %. Les glomérulonéphrites chroniques étaient la cause de l'insuffisance rénale chronique dans 42,5 % des cas, les néphropathies vasculaires dans 23,6 %, les néphrites interstitielles chroniques dans 16,1 %, les néphropathies congénitales dans 3,4 % et les maladies non classées dans 14,4 %. L' évolution de l'insuffisance rénale chronique a été compliquée par une insuffisance cardiaque dans 40,2 % des cas, une péricardite dans 31,6 % des cas, des hémorragies digestives (15 %) et des infections (22,4 %). La mortalité a été de 47,7 % au cours de l'hospitalisation.

**Auteurs** :A. Lengani, G. Coulibaly, M. Laville, P. Zech

#### DIAGNOSTIC D'UNE PROTÉINURIE OU D'UNE GLOMÉRULOPATHIE

##### Protéinurie :

Le filtre glomérulaire laisse passer 2 à 3 g de protéines de faible poids moléculaire par jour. Elles sont réabsorbées à 90% dans les tubules. 10% (uniquement l'albumine) passe dans les urines et constitue une protéinurie physiologique de 100 mg/jour.

La protéinurie est généralement découverte sur un simple prélèvement d'urine grâce à une bandelette urinaire.

##### Les protéinuries intermittentes :

Il faut tout d'abord éliminer la protéinurie orthostatique (intermittente) du sujet jeune (disparaît vers l'âge de 25 ans) :

La matin, jeter les urines émises par le malade. Il doit rester couché et boire 1 litre d'eau. Recueillir les

urines émises au moins une heure après avoir bu (échantillon 1). Le malade se lève et peut marcher, recueillir les urines suivante (échantillon 2).

Si l'on trouve des protéines dans l'échantillon 2 et pas dans l'échantillon 1, il s'agit d'une protéinurie orthostatique, sans gravité.

On peut aussi rencontrer une protéinurie intermittente "d'accompagnement" dans le cas de pathologies virales, rickettsioses, endocardites ...

Après avoir éliminé la protéinurie orthostatique, il faut ensuite pouvoir confirmer et préciser cette protéinurie : On réalise un prélèvement d'urine de 24 heures et on dose les protéines par la méthode à l'amidoschwartz.

On réalise aussi une étude du culot urinaire.

**Différents cas se présentent alors :**

1- Protéinurie > 3g/jour avec **syndrome néphrotique** : oedèmes, diminution des protéines totales sériques (< 60 g/l) et hyperlipémie (> 10-15 g/l). On peut aussi observer une oligurie.

- Glomérulonéphrite aiguë
- Néphrose lipoïdique
- Glomérulonéphrite secondaire

2- Protéinurie > 3g/jour sans syndrome néphrotique :

- Dysglobulinémie : très forte augmentation de la VS. Il faut envoyer un échantillon de sérum en vue de la réalisation de l'électrophorèse des protéines sériques.

3- Protéinurie < 1 g/jour :

- Pyélonéphrite aiguë
- Pyélonéphrite chronique

4- Protéinurie entre 1 et 3 g/jour :

On peut retrouver toutes les étiologies des cas 1 à 3, mais plus particulièrement la glomérulonéphrite aiguë.

5- Chez la femme enceinte :

On retrouve particulièrement des pyélonéphrites aiguës et des dysgravidies. Se reporter à la partie consacrée aux examens à réaliser chez la femme enceinte.

Dans tous les cas, les malades doivent être particulièrement suivis, les rechutes sont fréquentes.

**Glomérulonéphrite aiguë :**

Atteinte glomérulaire transitoire survenant, en règle générale, après une angine à streptocoques :

10-20 jours après une angine, on observe des douleurs lombaires, une oligurie de couleur brune (hématurie), un oedème des paupières, une asthénie, une anémie et de la fièvre.

Examen urinaire : protéinurie, hématurie

La maladie guérit le plus souvent seule (surtout chez l'enfant). Dans certains cas, on note un passage vers la chronicité.

**Glomérulonéphrite secondaire :**

Associé à une maladie générale :

Amylose rénale, diabète sucré, Hodgkin, LED, thrombose des veines rénales, néphrose de la petite enfance...

**Néphrose lipoïdique :**

Syndrome néphrotique du jeune enfant. Pas d'hypertension. Oligurie, vomissements, diarrhées, altération de l'état général. Complications infectieuses fréquentes. Possibilité de thromboses veineuses.

Examen urinaire : protéinurie > 3g/jour **sans** hématurie.

**Pyélonéphrites aiguës :**

Néphrite infectieuse (bacilles Gram négatif, entérocoque) associant une infection du bassin et une inflammation aiguë de l'épithélium rénal. Facteurs favorisants : grossesse, lithiase urinaire, hypertrophie prostatique, diabète sucré, sexe féminin.

Fièvre, frissons, céphalées, douleurs lombaires, urines troubles et mictions douloureuses

Examen urinaire : protéinurie, pyurie. La détermination de la famille du germe (coloration de Gram et aspect) permet d'orienter l'antibiothérapie (urgence thérapeutique). Sans traitement adéquat, évolue vers la pyélonéphrite chronique.

**Pyélonéphrites chroniques :**

Aussi appelée néphrite interstitielle chronique. Sclérose de l'interstitium rénal d'origine infectieuse, le plus souvent secondaire à une pyélonéphrite aiguë. Dans la grande majorité des cas, il y a un obstacle sur le trajet des voies urinaires.

Examen urinaire : protéinurie, infection urinaire récidivante, pyurie, bactériurie, signes d'insuffisance rénale évolutive associé ou non à une hypertension.

En cas de forte suspicion, il faut réaliser une radiographie ou une échographie des reins et des voies urinaires pour confirmer le diagnostic.

Traitement : anti-infectieux (ampicilline, gentamycine), chirurgical pour lever l'obstacle et traitement de l'insuffisance rénale et de l'hypertension.

## DIAGNOSTIC D'UN ÉPANCHEMENT D'ASCITE

Pratiquer tout d'abord un prélèvement de liquide d'ascite

On distingue deux types de liquides d'ascite :

- Transsudat : concentration des protéines inférieure à 10 à 20 g/l
- Exsudat : concentration des protéines supérieure à 10 à 20 g/l.

| Cause de l'ascite  | Description  |
|--------------------|--|
| Ascite éthylique   | Généralement pauvre en cellules (<200/mm <sup>3</sup> ). Patient "marqué" et autres signes d'éthylisme avancé : augmentation franche du VGM, insuffisance hépatique diminution de la coagulation globale...                                    |
| Ascite infectieux  | Liquide trouble, à type d'exsudat, leucocytes supérieurs à 500/mm <sup>3</sup> , polynucléaires supérieurs à 70% des éléments présents. Présence de germes à la coloration de Gram ou à l'examen direct (essentiellement des bacilles gram -). |
| Ascite tuberculeux | Prédominance de lymphocytes. Réaliser une nouvelle lame que l'on colorera par la méthode de Ziehl-Nielsen puis rechercher des bacilles acido-alcool résistants.  |
| Ascite chyleux     | lipides totaux supérieurs à 4 g/l (aspect de la ponction très évocateur).  |
| Ascite tumoral     | Formule leucocytaire panachée, présence de cellules tumorales. Altération de l'état général du patient.  |

## DIAGNOSTIC D'UN EPANCHEMENT PLEURAL

Réaliser tout d'abord une ponction pleurale avec examens biochimiques, cytologiques et bactériologiques.

**Les examens biochimiques** permettent de classer l'épanchement entre transsudat et exsudat.

Ils reposent essentiellement sur la détermination des protéines. Un taux supérieur à 30 g/l définit l'exsudat (inflammation, cancer...). Un taux inférieur à 30 g/l définit le transsudat. Tout transsudat " limite " doit être considéré comme un exsudat. Il faut noter qu'un transsudat vieilli peut devenir riche en protides.

On peut effectuer le rapport glycopleurie / glycémie. S'il est < 0,5, c'est très évocateur d'une pleurésie purulente, tuberculeuse, ou rhumatismale.

**Examens cytologiques :**

La numération formule a une valeur d'orientation diagnostique :

- évidente pour les pleurésies purulentes lorsqu'il existe plus de 50% de polynucléaires, souvent altérés.
- faible pour la tuberculose ; un pourcentage de lymphocytes supérieur à 85 p. 100, ou plus de 1 000 lymphocytes/mm<sup>3</sup>, avec peu de cellules mésothéliales évoque une pleurésie tuberculeuse.
- la valeur d'orientation est nulle pour les pleurésies malignes dont la formule cellulaire est le plus souvent panachée.
- une élévation des éosinophiles (supérieure à 10%) à la première ponction ne doit pas modifier l'éventail des diagnostics à envisager mais oriente cependant vers la pleurésie suivant un traumatisme, une embolie pulmonaire et surtout une pleurésie bénigne idiopathique.
- une pleurésie hémorragique fait évoquer notamment une embolie pulmonaire, un traumatisme ou surtout une pathologie maligne.

Cytologie tumorale :

Celle-ci est positive dans 30 à 50% des pleurésies malignes. Les faux positifs ne sont pas exceptionnels (jusqu'à 2 %).

**Examen microbiologique** : tout épanchement est normalement stérile.

Recherche de BK :

En cas de pleurésie tuberculeuse, la recherche à l'examen direct est exceptionnellement positive (< 2%), et rarement positive (< 20%) après culture, cette recherche est néanmoins souvent fructueuse en cas de pyopneumothorax tuberculeux.

Recherche de bactéries non tuberculeuses :

L'examen direct et la coloration de gram ont une sensibilité assez faible, mais permettent de rechercher s'il existe un monomicrobisme. La présence de diplocoques gram + oriente vers une infection pneumococcique. Dans tous les cas, la présence de germes et leur aspect à la coloration de gram permet d'orienter l'antibiothérapie.

Appuyée sur la clinique, une formule leucocytaire à prédominance de polynucléaires et sans présence de germes à l'examen direct oriente vers une pathologie infectieuse.

## ORIENTATIONS DIAGNOSTIQUES LORS D'UNE FIEVRE ISOLEE

**Hémogramme et fièvre :**

- Leucopénies : Typhoïde, salmonellose, leishmaniose viscérale, brucellose, rickettsiose, arboviroses
- Syndrome mononucléosique : hépatite virale, mononucléose infectieuse, CMV, toxoplasmose, trypanosomiase.
- Éosinophilie : bilharziose, distomatoses, trichinose, LMH.
- Polynucléose : paludisme, amibiase hépatique, septicémie, suppuration profonde

**Vitesse de sédimentation et fièvre :**

- Normale : maladie virale
- > 100 mm à la première heure : amibiase hépatique, trypanosomiase, leishmaniose viscérale, RAA, suppuration, cancer viscéral.

**Examen urinaire et fièvre :**

- protéinurie + hématurie :
- protéinurie sans hématurie :
- hématurie sans protéinurie :

## EXAMENS A EFFECTUER CHEZ UNE FEMME ENCEINTE

**Diagnostic de la grossesse :**

Clinique : exclure une contraception

- Aménorrhée, gonflement mammaire
- Nausées, vomissements

Attention : aux ménopauses, aux métrorragies de début de grossesse, aux aménorrhées endocriniennes ...  
Biologique : test immunologique de grossesse

- Test unitaire en plaque
- Fiable, simple, pratique, certains se conservent à température ambiante
- Cher (environ 12 FF le test)

### **Suivi et surveillance biologique :**

Premier trimestre (ou première visite) :

- Dépistage de la syphilis (RPR, TPHA)
- Dépistage d'une anémie (GR, hémoglobine, hématocrite, constantes) et de ses causes (drépanocytose, thalassémie, G6PD entre autre)
- Groupage sanguin
- Recherche de protéinurie et de glycosurie par bandelette réactive

Deuxième trimestre :

- Recherche de protéinurie et de glycosurie par bandelette réactive
- Proposer un dépistage du VIH

Troisième trimestre

- Recherche de protéinurie et de glycosurie par bandelette réactive

Dans tous les cas, les éventuelles infections urinaires et vaginales seront explorées plus particulièrement chez la femme enceinte.

### **Annexe : les Dysgravidies :**

Aussi appelé néphropathie gravidique ou toxémie, survient généralement chez la primipare, au 3ème trimestre de la grossesse.

Cette pathologie associe :

- Hypertension artérielle
- Protéinurie sans infection urinaire, une valeur élevée est de mauvais pronostic.
- Des oedèmes

Sans traitement, conséquences grave pour :

- La mère : pré-éclampsie, céphalées, éclampsie, troubles digestifs ... évoluant en état de mal éclamptique.
- L'enfant : hypotrophie, décollement du placenta, mort in utero.

### **BILAN PRÉOPÉRATOIRE HÉMATOLOGIQUE**

Un bilan minimum est conseillé avant toute opération. Lors d'urgences, il n'est hélas pas toujours possible de réaliser ce bilan.

### **Prélèvement :**

Réaliser un prélèvement de sang veineux. Recueillir un tube avec EDTA et un tube sec.

## Analyses :

- Numération des GR et des plaquettes, éventuellement des GB avec une formule leucocytaire
- Dosage de l'hémoglobine, détermination de l'hématocrite et calcul des constantes
- Estimation globale de la coagulation et temps de saignement

On peut aussi doser l'urée et la créatinine. En cas d'insuffisance rénale (ou de sujet âgé), la mesure de la clairance de la créatinine permet d'adapter la posologie des médicaments utilisés pendant l'opération.

### Pendant l'opération :

En cas de problèmes de saignements, outre la pression sanguine, on peut réaliser rapidement un hématocrite sur un prélèvement de sang capillaire. Cependant, la décision de transfuser ou non un patient est posée par la valeur de l'hémoglobine (généralement < 60g/l).

## PRÉLÈVEMENTS

- A visée mycologique
- Crachats
- D'ascite
- Expectorations induites
- Gorge
- Myélogramme
- Nez
- Oreille
- Plaie
- Pleural
- Ponction ganglionnaire
- Ponction lombaire
- Recherche de MST
- Sang capillaire
- Sang veineux
- Selles
- Urétral
- Urine
- Vaginal

## PRÉLÈVEMENT POUR RECHERCHE MYCOLOGIQUE

### Matériel :

Poudrier stérile, curette, vaccinostyle, pince à épiler,

### Mode Opérateur :

Les prélèvements mycologiques peuvent être contagieux, il est recommandé de procéder avec la plus grande hygiène et de bien désinfecter tout le matériel de prélèvement réutilisable.

- Pour toutes les lésions sèches :  
Après avoir gratté la lésion à l'aide d'une curette, placer le prélèvement dans un récipient stérile ou propre et sec (poudrier) avec le vaccinostyle qui a servi à prélever.
- Système pileux, teignes, kérions ou sycosis :  
A la périphérie de la lésion, on observe très souvent une zone desquamante qui peut être prélevée à l'aide d'un vaccinostyle ou d'une curette.  
Les cheveux ou poils atteints sont en général cassés. Prélever à l'aide d'une pince désinfectée l'ensemble du poil ou cheveu avec la racine.  
Si l'on dispose d'une lampe UV, on peut effectuer le test en lumière de Wood.
- Lésion sèche de la peau glabre ou des plis :  
Prélever à la périphérie de la zone atteinte (vaccinostyle ou curette)
- Lésion unguéale et péri-unguéale :  
L'ongle atteint est en général friable et libère en grattant de nombreuses particules.

Procéder en suite à une recherche d'éléments mycéliens, de dermatophytes, de *Pityriasis versicolor* ...

Liens vers les champignons

## PRÉLÈVEMENT DE CRACHATS

Les prélèvements de crachats sont généralement pratiqués pour la recherche de bacilles tuberculeux. Cette étape est primordiale pour permettre un diagnostic sûr et fiable de la tuberculose pulmonaire.

Les prélèvements de crachat peuvent aussi être pratiqués pour le diagnostic d'autres pathologies : pneumonies, aspergilloses, pneumocystose ....

Parfois, on préférera réaliser un prélèvement d'expectorations induites.

### Matériel :

Pot à crachats ou à défaut pliage en carton fort ("bombe à eau" à ouverture agrandie)

**Mode opératoire :** on préférera les crachats du matin au réveil.

- Faire tout d'abord moucher le malade puis avaler sa salive plusieurs fois,
- Faire tout d'abord tousser le patient puis le faire cracher dans le pot que l'on referme aussitôt.
- Tout prélèvement salivaire sera immédiatement rejeté.

### Examen macroscopique du crachat :

Le crachat est classé en 6 catégories :

1. muqueux
2. muqueux strié ou ponctué de mucopus
3. muco-purulent léger
4. muco-purulent dense
5. muco-purulent épais
6. mucopus noyé dans la salive abondante

- La **salive** est claire, filante, incolore
- Le **mucus** est plus épais et plus consistant, il est gris-verdâtre, translucide et difficile à dissocier
- Le **pus** est épais et opaque, traduisant la présence de nombreux éléments plus ou moins altérés. Il est jaune-verdâtre, et se présente sous la forme de petites stries, de petites virgules ou de petits points, difficiles à dissocier du crachat

Une fois que l'on a noté son aspect, on peut procéder à l'étalement du crachat sur une lame.

## PONCTION D'ASCITE

Une ponction d'un liquide d'ascite est faite pour aider au diagnostic des causes d'un épanchement péritonéal. En effet, l'apparition du liquide dans le péritoine a de nombreuses causes locales ou générales.

### Procédure de prélèvement :

Il n'existe pas de contre-indication au prélèvement de liquide d'ascite, même en cas de traitement anticoagulant ou de diminution de la coagulation.

Désinfection soigneuse de la peau. Prélèvement à la seringue à travers l'abdomen sans anesthésie locale. Une surinfection est exceptionnelle.

### Traitement du prélèvement :

La présence de liquide est anormale. Sur ce liquide, on réalise :

1. Un examen macroscopique : couleur, aspect, présence de coagulum... Le liquide est généralement d'aspect citrin, jaune clair et limpide. Il peut être légèrement coloré en vert par la bile. Un aspect trouble évoque généralement une infection. Un aspect chyleux ou hémorragique oriente plutôt vers une pathologie néoplasique.
2. Une étude cytologique avec recherche de cellules tumorales et numération des éléments nucléés sur cellule de comptage (leucocytes, cellules endothéliales, éventuellement cellules atypiques)
3. On centrifuge ensuite le liquide à vitesse moyenne (pour ne pas léser les cellules) puis on note la consistance du culot et la couleur du surnageant. Ensuite, on réalise :  
Un dosage des protéines par lunette réfractométrique sur le surnageant.  
Un étalement du culot sur **trois** lames :
  - Une lame servira à un examen direct sans coloration
  - Une lame sera colorée au MGG pour la formule leucocytaire et l'aspect des cellules
  - La dernière sera colorée au Gram pour décrire les bactéries éventuellement présentes.

On peut ensuite se référer au chapitre de diagnostic d'un épanchement d'ascite

## RECUEIL D'EXPECTORATIONS INDUITES

Le recueil d'expectorations induites est utilisée pour le diagnostic de parasitoses pulmonaires, en particulier chez l'immunodéprimé.

On recherche principalement des Pneumocystis et des Histoplasma, éventuellement la tuberculose.

Pour un diagnostic de qualité, l'idéal est de pouvoir pratiquer un LBA, chose quasiment impossible dans les pays en développement.

On pratiquera donc la recherche sur des expectorations induites par l'inhalation d'une solution de NaCl à 30 g/l pendant 15 minutes (pour nébuliser la solution, utiliser un flacon vide et propre de type "Atrovent" ou "Rhinofluimicil").

Le malade doit bien inspirer profondément la solution, la tête renversée en arrière. Le clinicien pourra ensuite provoquer les expectorations induites, grâce à une kinésithérapie adéquate.

Ces expectorations sont recueillies dans deux poudriers stériles. La deuxième expectoration est généralement la plus riche en parasites.

Ensuite,

- centrifuger le prélèvement dans un tube conique pendant 5 minutes à la vitesse maximum
- réaliser un examen direct ainsi que plusieurs étalements de lames avec le culot obtenu
- Fixer les lames bien sèches au méthanol pendant 2 minutes
- les colorer avec du Giemsa à 10 % pendant une quinzaine de minutes.

## PRÉLÈVEMENT DE GORGE

Un prélèvement de gorge est effectué généralement après l'échec d'une thérapeutique ou lorsque la clinique n'est pas suffisamment évocatrice.

**Matériel :**

Un abaisse-langue en bois (ou une petite tige de mil) à usage unique, un écouvillon, gants, lames

**Mode opératoire :**

A l'aide de l'abaisse-langue, appuyer à la base de la langue pour découvrir la gorge. Sans abaisse-langue (enfants), le patient fait AAAH en tirant la langue. Repérer les endroits inflammatoires, des points blancs (pus) ou encore une pseudo-membrane. Prélever précisément à cet endroit. Au besoin, utiliser un autre écouvillon pour un autre endroit. Noter la fièvre éventuelle ainsi que la présence ou non de ganglions.

Réaliser ensuite un examen direct puis un étalement sur lame en vue d'une coloration (Gram ou MGG).

## MYÉLOGRAMME

- Introduction et réalisation
- Lecture du myélogramme
- Examen de la lignée érythrocytaire
- Examen de la lignée granuleuse
- Examen de la lignée mégacaryocytaire

Un myélogramme consiste en la confection d'un étalement de suc médullaire sur lame de verre, puis à sa coloration. Les cellules médullaires ainsi fixées et colorées sont observées au microscope.

Le but de ce prélèvement est l'étude cytologique quantitative et qualitative des frottis médullaires réalisés après ponction aspiration de moelle osseuse.

L'indication de cet examen de diagnostic hématologique, se pose toujours au vue des résultats d'un hémogramme préalable anormal, d'une suspicion d'hémopathie maligne ou pour faire le diagnostic de certaines parasitoses (leishmanioses viscérales).

### Matériel nécessaire :

Un trocart, 4 lames propres et dégraissées. On utilise souvent un trocart à ponction lombaire, mais ce n'est pas la meilleure solution. L'idéal est l'utilisation du trocart de Mallarmé à usage multiple, stérilisable et spécialement conçu pour cet usage. A défaut, on préconise plutôt une aiguille à intra-musculaire de gros diamètre.

### Réalisation pratique :

La réalisation d'un myélogramme est un acte strictement médical, réservé à une personne entraînée.

Établissement de frottis sur lames à partir de « suc médullaire » obtenu par ponction d'un os (généralement le sternum) par un trocart et aspiration par une seringue montée. Une anesthésie locale est possible mais non nécessaire. Le suc est tiré doucement (ni étalé ni écrasé) sur plusieurs lames qui sont séchées à l'air. Il faut absolument obtenir des "grains", visibles à l'œil.

Les lames sont ensuite colorées au MGG

### Incidents et accidents :

La ponction sternale peut être dangereuse chez l'enfant (un autre lieu de ponction est souhaitable). Chez le sujet âgé, se méfier des sternums très ostéoporotiques.

### Lecture du myélogramme :

On peut se reporter au chapitre donnant les photos de toutes les lignées des cellules sanguines.

La lecture d'un Myélogramme s'effectue schématiquement en 3 étapes successives :

- 1- Numération des mégacaryocytes : nombre de mégacaryocytes sur 50 champs successifs à l'objectif 10.
- 2- Richesse médullaire : appréciée par la densité cellulaire par champ à l'objectif 100, une moelle normale est entre les classes II et III.

|            |   |
|------------|---|
| Classe 0   | présence inconstante de cellules prélèvement désertique |
| Classe I   | 1 à 15 cellules / champ, prélèvement pauvre             |
| Classe II  | 16 à 30 cellules / champ, moelle hypoplasique           |
| Classe III | 31 à 60 cellules / champ, moelle normale                |
| Classe IV  | > 60 cellules / champ, moelle hyperplasique             |

Attention ! un prélèvement pauvre peut traduire une moelle diluée de sang ou bien une aplasie ou une fibrose médullaire. Il faut aussi penser à la qualité du prélèvement. Ne pas oublier qu'une moelle apparemment "pauvre" peut-être tout simplement un prélèvement raté.

3- Formule des éléments nucléés

On réalise une formule complexe en comptant tout d'abord le pourcentage respectif de chaque lignée (érythroblastique, myéloïde, lymphoïde, monocytaire) puis le pourcentage de chacun des différents stades dans chaque lignée.

Le pourcentage normal de chacune des 3 lignées médullaires est le suivant :

- lignée granuleuse (ou myélocytaire) : 60 %
- lignée rouge (ou érythroblastique) : 25 %
- lignées blanches non granuleuses (lymphocytes, plasmocytes et monocytes) : 15 %

Des écarts de 10 % par rapport à ces chiffres n'ont pas de signification pathologique ;

Ce genre de formule est long et complexe. Ce décompte doit être réalisé soigneusement. Au besoin, et en cas de doute, préparer 3 lames, bien les sécher, en colorer 1 sur le 3 puis envoyer le tout (accompagné des renseignements cliniques) à un laboratoire spécialisé.

### **Examen de la lignée érythrocytaire**

Elle donne accès facilement au pourcentage des érythroblastes médullaires (15 à 25 % normalement), chez l'adulte, mais il faut tenir compte de la richesse du frottis, traduisant la réalité ou la qualité du prélèvement, de l'hétérogénéité de ce frottis (on fait un décompte sur 500 à 1 000 cellules) et de la moelle (la ponction n'est qu'un sondage!). Il faut rapporter ce pourcentage à celui des granuleux :

le rapport E/G, normalement compris entre 1/3 et 1/5, est trop peu utilisé ; il est intéressant surtout quand sont présentes des cellules, lymphocytes ou cellules pathologiques, inhabituelles, qui faussent la valeur d'un pourcentage ; à la naissance, on a 30 à 40 % d'érythroblastes, puis, de 8 jours à 1 an, 8 à 12 % .

La courbe de maturation donne le pourcentage des différents stades (avec leurs normales) :

- pro-érythroblastes 4 %
- érythroblastes basophiles 16 %
- érythroblastes polychromato. 32 %
- érythroblastes orthochromatiques 48 %

ceci est apprécié par le cytologiste qui donnera un commentaire plutôt que des chiffres mal connus du clinicien .

Anomalies quantitatives :

- érythroblastose post-hémorragie ou post-hémolyse, anomalie correspondant à une réticulocytose élevée, plus aisée à reconnaître, accompagnée parfois de troubles qualitatifs par carence relative en antipernicieux (fer, folates, vitamine B12) par hyperconsommation de ceux-ci ;
- érythroblastopénies

Anomalies qualitatives :

- Association d'une érythroblastose de la lignée mégaloblastique (carences en antipernicieux), associée en même temps à une anémie ferriprive.
- Observation d'une dysérythropoïèse avec troubles de la condensation chromatiniennne (anémies dites "réfractaires" simples (ARS))
- Parfois sidéroblastose (anémies sidéroblastiques), observé uniquement à la coloration de Perls.

### **Examen de la lignée granuleuse :**

Valeurs normales :

Dans la lignée granuleuse, on devra avoir :

- très peu de cellules souches (myéloblastes 1 %)
- un peu plus de promyélocytes (environ le double)
- beaucoup plus de myélocytes (4 à 6 fois plus)
- puis les pourcentages doivent rester stables (métamyélocytes et polynucléaires traduisant la phase de maturation)

Anomalies quantitatives :

- Hyperplasie granuleuse globale dans certains syndromes myéloprolifératifs : LMC non acutisée myélofibrose (ou splénomégalie myéloïde) en phase initiale
- Hyperplasie granuleuse neutrophile dans les syndromes infectieux , mais la part des neutrophiles dans les hyperplasies globales rend les deux aspects faciles à confondre
- Hyperplasie éosinophile en général bien corrélée avec l'éosinophilie sanguine
- Rarement hyperplasie des basophiles, même avant une acutisation de LMC
- Disparition de la lignée neutrophile dans les "agranulocytoses", (le plus souvent médicamenteuses), mais donnant en fait un aspect de "blocage de maturation" plus ou moins haut situé dans la lignée, touchant aussi la lignée monocyttaire (qui "récupère" d'ailleurs plus rapidement), mais non la lignée éosinophile dont la parenté est plus éloignée et qui peut même être stimulée par le processus immuno-allergique ayant déclenché l'agranulocytose.

Anomalies qualitatives :

- Tendance au gigantisme dans les carences en facteurs antipernicieux , surtout nette aux stades myélocytaires et métamyélocytaires , plus sensibles que les éléments de la lignée rouge en cas de carence fruste (Biermer décapité)
- Présence de granulations dites tout à fait abusivement "toxiques" en cas de syndrome infectieux sévère
- Dysmyélopoïèse allant jusqu'à la présence de blastes dans les AREB et l'envahissement blastique dans les LAM que la cytologie classique a du mal à typer exactement et l'on fait appel à cytochimie (PAS-Soudan) ou la cyto-immunologie, techniques qui sortent du cadre de ce guide.

### **Examen de la lignée mégacaryocytaire :**

La lignée mégacaryocytaire représente normalement moins de 1 % des cellules de la moelle, les mégacaryocytes surtout sont aisés à repérer par leur taille gigantesque .

Aspect morphologique :

On distingue 4 stades principaux :

- le mégacaryoblaste première cellule reconnaissable dans la lignée, d'un diamètre de 20 à 30  $\mu$ , rare (5 % de la lignée normalement) à cytoplasme basophile, agranulaire, homogène, avec un rapport N/C élevé, le noyau comportant un ou plusieurs nucléoles
- le mégacaryocyte basophile ou promégacaryocyte, d'une taille de 40 à 50  $\mu$ , a un noyau progressivement lobulé, entouré d'un large cytoplasme basophile contenant quelques granulations azurophiles, il représente 15 % de la lignée
- le mégacaryocyte granuleux ou mûr, énorme (50 à 100  $\mu$ ), plus abondant, à cytoplasme acidophile et granuleux et à noyau très polylobé
- le mégacaryocyte plaquetto-gène ou plaquettaire, où le noyau devient pycnotique , le cytoplasme acidophile émettant de nombreux pseudopodes contenant des granulations azurophiles groupées en amas (futurs plaquettes)

L'examen du myélogramme :

- ne permet pas d'aboutir à un pourcentage car les mégacaryocytes représentent en principe moins de 1 % des cellules médullaires
- et l'on se contente de dire taux "normal" ou bien "abaissé" ou encore "élevé".... avec des adverbes
- en indiquant aussi la qualité de la maturation par un commentaire .

Anomalies quantitatives :

- hypo ou amégacaryocytose avec thrombopénie généralement acquises lors d'envahissement de la moelle (leucémies , myélome ,cancers métastatiques, voir les hémopathies) ou post-radio et/ou chimiothérapie.
- hypermégacaryocytoses des syndromes inflammatoires, cancers ou réactionnelles à une thrombopénie dite "périphérique" dans les PTI, atteintes toxiques (surtout médicamenteuses) ou post-infectieuses

Anomalies qualitatives :

- Dysmyélopoïèse ou carences en antipernicieux : aspect polylobé et gigantisme.

## **PRÉLÈVEMENT DE NEZ**

Les prélèvements de nez sont en général effectués pour le diagnostic de la lèpre.

### **Matériel :**

1 ou 2 écouvillons, lames, gants.

### **Mode opératoire :**

Faire asseoir le patient, tête légèrement renversée en arrière.

Avec l'écouvillon, frotter soigneusement la cloison internasale en haut du nez. Faire toutefois attention à ne pas la perforer, les lépreux possèdent une cloison nasale très fine et très fragile.

Procéder ensuite à un étalement de l'écouvillon puis à une coloration de Ziehl modifiée pour le bacille de Hansen.

## **PRÉLÈVEMENT D'OREILLE**

### **Matériel :**

Un adaptateur stérile conique auriculaire en inox, un écouvillon très fin, un auriculoscope à piles, gants, pipette pasteur stérile.

### **Mode opératoire :**

Placer l'adaptateur dans le conduit, l'observer grâce à l'auriculoscope puis prélever le pus sur l'écouvillon ou encore dans la pipette pasteur s'il est très liquide.

Pratiquer ensuite un étalement sur lame et un examen direct. On peut ensuite colorer au Gram

On peut être amené à rechercher des éléments mycéliens dans ce prélèvement.

Désinfecter l'adaptateur dans la javel avant de le stériliser.

## **PRÉLÈVEMENT DE PLAIE**

Lors d'une plaie infectée, les bactéries responsables de l'infection sont les plus profondes, au niveau de la plaie. Elles produisent des déchets dont se nourrissent d'autres bactéries, qui elles même produisent des déchets et ainsi de suite. Si on ne pratique pas un prélèvement correct, on ne verra que les bactéries des 2<sup>èmes</sup> et 3<sup>èmes</sup> couches, et pas celles réellement à la source de l'infection.

### **Matériel :**

Écouvillon, compresses, eau distillée ou sérum physiologique, lames, lamelles

### **Mode opératoire :**

Laver soigneusement la plaie : faire couler abondamment de l'eau ou du sérum physiologique stérile sur la plaie et, en même temps la frotter (fermement si elle n'est pas trop sensible) avec des compresses ou tampons. Insister sur les anfractuosités et changez de tampons jusqu'à ce qu'ils semblent quasi propres. Sécher la plaie en appliquant une compresse stérile, mais sans frotter pour ne pas rapporter des germes depuis la périphérie de la plaie.

En choisissant une zone qui vous semble intéressante, prélever cette plaie avec un écouvillon. Si possible, cet écouvillon sera appliqué fermement et on le fera tourner sur lui-même.

Étaler tout de suite le prélèvement sur plusieurs lames et procéder à un examen direct puis à une coloration de Gram.

## PONCTION PLEURALE

**Avertissement** : une ponction pleurale est un acte **strictement** médical qui doit être réalisé par un personnel habitué et lorsque cette ponction est **indispensable** pour poser un diagnostic ou lever le doute en cas de diagnostics différentiels nombreux. Un traitement anticoagulant sera signalé, ainsi qu'une éventuelle intolérance aux anesthésiques locaux ou une contre-indication à l'atropine. Généralement, cet acte est réalisé **après un cliché radiologique** face et profil récent. Un minimum de surveillance après l'examen et la **possibilité d'obtenir facilement un cliché** post-ponction sont souhaitables. Dans tous les cas, **ne pas hésiter** à transporter le malade dans un centre de plus grande importance.

### But :

Diagnostic des épanchements pleuraux grâce aux examens chimiques, cytologiques et microbiologiques du liquide de ponction. Tout épanchement pleural doit normalement être ponctionné.

### Réalisation pratique :

Le sujet peut s'alimenter normalement avant l'examen. Une prémédication (atropine) et/ou une anesthésie locale (lidocaïne) sont habituelles.

La ponction pleurale est faite soit de principe sur la ligne axillaire moyenne (épanchement libre), soit en pleine matité (pleurésie purulente), soit en cas de ponction difficile après repérage échographique (très rarement disponible dans les hôpitaux des pays en développement). L'aiguille aura un calibre d'autant plus important que l'on suspecte un liquide épais (pleurésie purulente, hémothorax).

Au moins 3 tubes, traités **immédiatement**, seront remplis pour :

- La cytologie (quelques dizaines de ml) : après avoir noté l'aspect du prélèvement, réaliser une numération des éléments sur cellule puis, après étalement, à une coloration MGG en vue de pratiquer une formule leucocytaire et une recherche de cellules tumorales.
- La biochimie (quelques ml) : réaliser un dosage des protéines totales (à réaliser immédiatement pour éviter de voir apparaître un "faux" exsudat par augmentation des protéines avec le temps) et, éventuellement, un dosage du glucose sur le surnageant en parallèle au dosage du glucose sérique.
- La bactériologie (quelques ml) : procéder à un examen direct entre lame et lamelle puis, après étalement sur au moins 2 lames, à une coloration de gram et une coloration de Ziehl-Nielsen.

### Incidents et accidents :

- Exceptionnellement graves : mort subite ou embolie gazeuse.
- Souvent de simples incidents : pneumothorax minime, hémoptysie transitoire. Malaise vagal. Douleur thoracique dans les heures qui suivent la ponction.

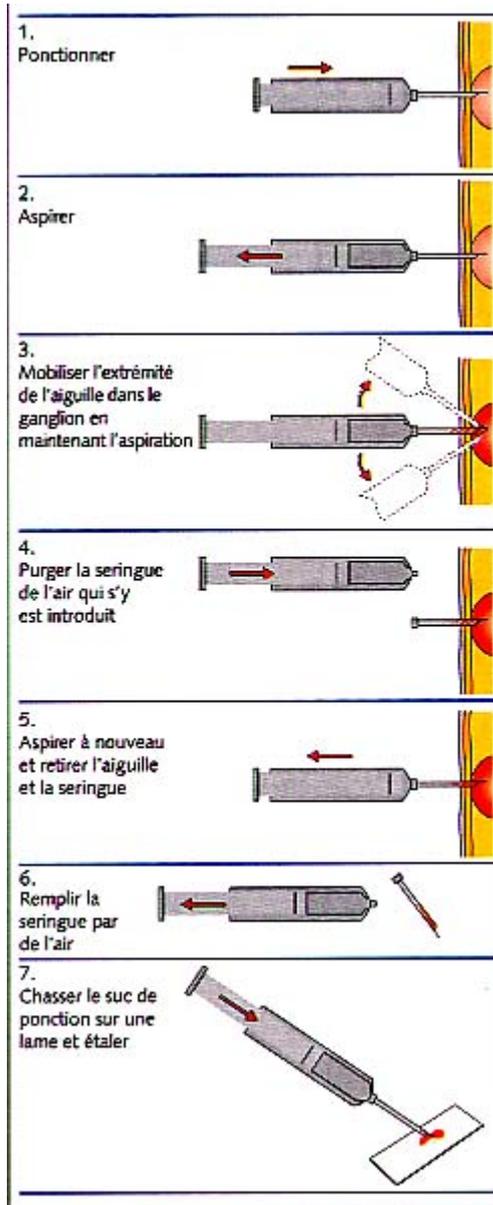
**Résultats** : se reporter à la partie diagnostic d'un épanchement pleural .

## PONCTION GANGLIONNAIRE

### Principe :

La ponction ganglionnaire aide au diagnostic étiologique des adénopathies. Ce geste simple fait partie de l'exploration initiale d'une adénopathie sans étiologie évidente. Ne jamais oublier qu'un résultat négatif n'apporte pas grand chose.

On peut aussi réaliser une ponction ganglionnaire lorsque l'on suspecte une filariose.



### Réalisation pratique :

Avant la ponction, on note précisément le siège du prélèvement, le caractère douloureux ou non du ganglion, sa consistance (dure, ferme, molle), sa mobilité : fixé ou non. Il est aussi important de préciser le caractère isolé ou disséminé des adénopathies, leur localisation uni ou bilatérale

On ponctionne directement avec une aiguille de 6 à 8 dixième de mm de diamètre le ganglion superficiel jugé pathologique, en l'immobilisant entre pouce et index. Il ne faut pas aspirer le suc ganglionnaire avec une seringue, sauf si l'adénopathie est inflammatoire et que l'on pense retirer du pus. Une fois plantée dans le ganglion, l'aiguille est tournée sur elle-même entre pouce et index, puis retirée et la goutte de suc ainsi prélevée est chassée à la seringue sur plusieurs lames, étalée, fixée par dessèchement, colorée par les colorations de Gram et MGG puis les lames sont lues au microscope. Si du pus est retiré, on peut refaire une ponction avec une aiguille de plus fort calibre montée sur une seringue.

### Ponction d'un ganglion inflammatoire

### Incidents et accidents :

Aucun accident grave n'est à déplorer si l'on est sûr de la nature ganglionnaire de l'organe ponctionné. Les incidents sont sans gravité : ecchymose au point de piqûre, gonflement du ganglion par hémorragie intraganglionnaire. Si la ponction a porté sur une tuméfaction de nature non lymphoïde prise pour un ganglion, la cytologie va corriger le diagnostic.

**Résultats :** on peut se reporter à l'aspect des cellules hématologiques

Plus que le pourcentage des diverses catégories de cellules, la description d'ensemble et les conclusions du cytologiste comptent d'avantage. Il y a, sur un adénogramme normal,

environ 90% de cellules lymphoïdes à différents stades de fonction (petits lymphocytes, grands lymphocytes hyperbasophiles, plasmocytes) et environ 10% de cellules macrophagiques (monocytes, mastocytes et grands macrophages contenant des inclusions). Le suc ganglionnaire normal est stérile.

### Interprétation et intérêt :

La ponction apporte au clinicien des renseignements sur la consistance et la nature du ganglion : épaissement de la coque, tissu compact ou mou, nécrose du centre, aspect du suc retiré... L'examen cyto bactériologique apporte des renseignements complémentaires et permet généralement d'orienter le diagnostic entre adénopathies infectieuses, inflammatoires, parasitaires, tumorales ou de surcharge.

Dans les adénopathies infectieuses, le suc retiré est plus ou moins nécrotique, contenant des polynucléaires altérés et des macrophages. Selon le type d'infection, on peut mettre en évidence des germes extra ou intracellulaires, prenant ou non la coloration de Gram. Les germes banaux les plus fréquemment rencontrés sont les staphylocoques et les streptocoques.

La tuberculose ganglionnaire se traduit par un suc généralement nécrotique, avec parfois une réaction cellulaire faite de lymphocytes, de plasmocytes, de cellules géantes et de cellules épithélioïdes ; le bacille de la tuberculose peut être mis en évidence par coloration de Ziehl. Une nécrose pure sans bactéries évoque une lymphoréticulose bénigne (maladie des griffes du chat).

Les adénopathies inflammatoires se caractérisent par la richesse cellulaire de l'étalement qui est fait de lymphocytes polymorphes, de plasmocytes et de grands immunoblastes. La présence de cellules

phagocytaires (polynucléaires et macrophages) est fréquente. Cet aspect dit " inflammatoire " peut avoir de multiples causes : infections virales, syndromes mononucléosiques, syphilis, toxoplasmose, maladies de système (polyarthrite rhumatoïde, lupus) ou encore certains médicaments (hydantoïne)

Dans les parasitoses responsables d'adénopathies, la ponction peut apporter la preuve de l'étiologie en montrant le parasite (leishmanioses, filarioses, trypanosomiasés).

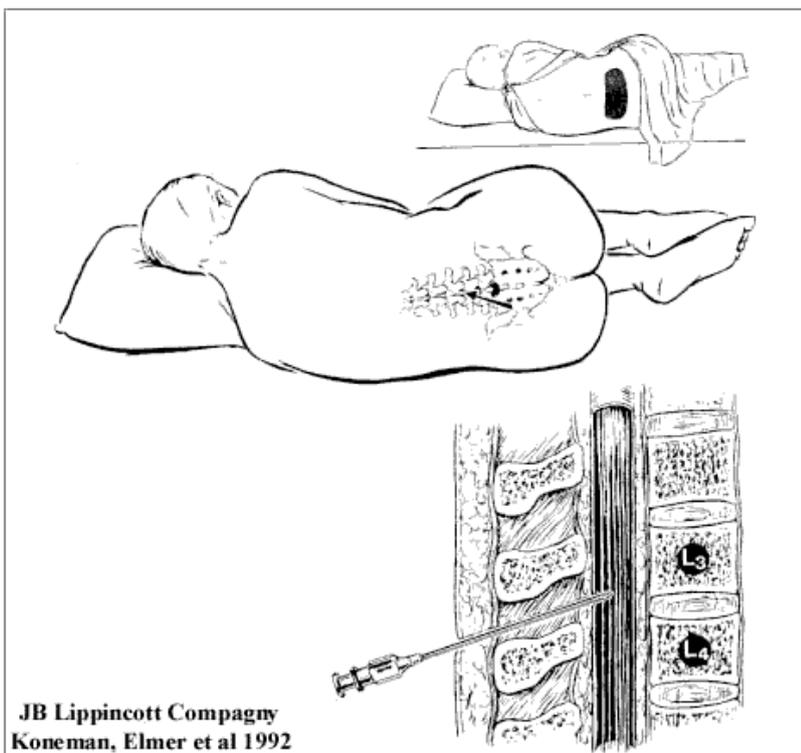
Les adénopathies malignes forment le groupe le plus important car c'est souvent en pensant à elles que le clinicien a ponctionné :

- Les adénopathies métastatiques montrent un étalement fait de cellules étrangères au ganglion, groupées en amas, d'allure plus ou moins monstrueuse.
- La présence sur l'étalement d'un granulome (mélange de lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires) et de cellules de Reed Sternberg évoque la maladie de Hodgkin. Un étalement monomorphe fait de cellules lymphoïdes évoque un lymphome non Hodgkinien, et l'étude cytologique fine que permet la ponction peut aider à la classification.

Se reporter aux hémopathies malignes

## PONCTION LOMBAIRE

Le prélèvement de liquide céphalo-rachidien permet le diagnostic d'une méningite. On peut aussi pratiquer ce prélèvement pour rechercher des trypanosomes lors de la phase méningo-encéphalitique de la maladie. L'aspect clinique d'une méningite est généralement très évocatrice, surtout en zone et en saison d'endémie. Cependant, dans certains cas et surtout chez l'enfant, il peut être utile de confirmer le diagnostic.



**ATTENTION :** Une ponction lombaire est un acte médical complet qui ne peut pas être effectué par un technicien de laboratoire, c'est un acte réservé à l'infirmier ou au médecin.

### Matériel :

Un trocart à ponction lombaire, de préférence à usage unique, ou stérilisé soigneusement, coton, désinfectant, 2 tubes coniques **stériles** pour le recueil du LCR.

### Mode opératoire :

Les 4-5 premières gouttes du LCR (dans lesquelles il peut y avoir un peu de sang ou quelques cellules cartilagineuses) sont recueillies dans le premier tube, le reste (une vingtaine de gouttes) dans le deuxième : c'est lui qui sera utilisé pour l'analyse.

**L'examen d'une ponction lombaire est un geste D'URGENCE, Il devra**

**être effectué aussitôt après le prélèvement. L'infirmier ou le médecin seront prévenus au fur et à mesure de l'avancement des examens**

**On pratiquera dans l'ordre :**

- Un relevé de l'aspect du liquide pur (clair, trouble, citrin, hémorragique)

- Une numération des leucocytes, des érythrocytes et des autres éléments sur le liquide **PUR** et préalablement homogénéisé. Il pourra être éventuellement dilué si il comporte beaucoup d'éléments. On notera la présence éventuelle de germes (préciser intra ou extra-cellulaires).
- Une centrifugation du liquide. On notera l'aspect du surnageant et du culot
- Un dosage des protéines et du glucose sur le surnageant (récupéré dans un petit tube propre)
- Deux lames réalisées par écrasement du culot, une colorée au MGG pour déterminer la formule leucocytaire, l'autre colorée au Gram pour observer d'éventuelles bactéries.

## **PRÉLÈVEMENTS A EFFECTUER POUR RECHERCHER UNE MST**

### **Prélèvement de chancre syphilitique : diagnostic de la syphilis**

- Utiliser des gants
- Nettoyer le chancre en projetant du sérum physiologique avec une pissette. Il faut enlever la crème ou la pommade que le patient aurait pu utiliser.
- Bien sécher avec une gaze stérile
- Si des sérosités apparaissent spontanément, appliquer directement la ou les lames (préalablement dégraissée et flambée) sur le chancre.
- Sinon, pratiquer 2 ou 3 petites incisions sur les bords du chancre, sans faire saigner, pour recueillir les sérosités sur les lames.

Ensuite, 2 possibilités :

- Vous disposez d'un microscope à fond noir : déposer une lamelle sur la goutte de sérosité et observer
- Vous ne disposez pas de microscope à fond noir, laisser sécher la lame puis colorez par la méthode de Vago avant d'observer.

On peut aussi laisser sécher le prélèvement sans le colorer et l'envoyer à un laboratoire de référence qui réalisera une coloration de Fontana-Tribondeau ou une technique d'immunofluorescence pour rechercher les tréponèmes.

Observer au moins 10 minutes au microscope avant de rendre le résultat.

Un résultat négatif n'élimine pas une syphilis. Le diagnostic est surtout fait par agglutination (RPR, TPHA)

### **Prélèvement d'une lésion pianique : diagnostic du pian : attention, les pianomes sont très contagieux.**

- Ce prélèvement est réalisé sur un pianome non surinfecté.
- Désinfecter le pianome avec de l'alcool à 70°, laisser sécher.
- Soulever alors la croûte avec une petite pince ou un vaccinostyle puis prélever une petite quantité de sérosité avec le vaccinostyle ou une aiguille. L'étaler sur une lame.

Ensuite, 2 possibilités :

- Vous disposez d'un microscope à fond noir : déposer une lamelle sur la goutte de sérosité et observer
- Vous ne disposez pas de microscope à fond noir, laisser sécher la lame puis colorez par la méthode de Vago avant d'observer.

On peut aussi laisser sécher le prélèvement sans le colorer et l'envoyer à un laboratoire de référence qui réalisera une coloration de Fontana-Tribondeau ou une technique d'immunofluorescence pour rechercher les tréponèmes.

### **Prélèvement d'un ulcère de donovanose : diagnostic d'une MST**

Préparer 3 lames, dégraissées et flambées et une pince stérile.

On choisira la partie la moins surinfectée de l'ulcère, à 4 ou 5 mm des bords de l'ulcère.

Nettoyer soigneusement la surface à prélever en découpant un petit peu avec une gaze stérile imbibée de sérum physiologique. Ce décapage peut faire saigner, l'arrêter en exerçant une légère pression pendant 2 à 3 minutes.

A l'aide d'un petit scalpel, prélever ensuite un granulome de 2 à 3 mm de diamètre puis l'éponger de son sang sur une compresse.

Prendre le granulome avec la pince et réaliser successivement :

- Lame 1 : deux frottis du granulome
- Lame 2 : 10 appositions du granulome en "prenant son empreinte"
- Lame 3 : écraser le granulome avec la pince.

Laisser sécher soigneusement les lames et procédez à une coloration de MGG (sans fixation) ou à défaut de Gram (fixer auparavant avec 2 ou 3 gouttes d'alcool à 95°).

#### **Prélèvement d'un chancre mou : diagnostic d'une MST**

Prélever avec un écouvillon après avoir nettoyé le pus abondant avec une gaze stérile imbibée de sérum physiologique.

Il faut passer l'écouvillon sur la base de la paroi externe de l'ulcère, au niveau du décollement périphérique, dans un mouvement tournant, de façon à prélever tout le pourtour de l'ulcère plusieurs fois.

Ce prélèvement est douloureux et peut fréquemment faire saigner.

Étaler le prélèvement sur deux lames. Laisser sécher soigneusement les lames et procédez à une coloration de MGG et de Gram (moins sensible, mais donne le Gram).

Il est inutile de prélever l'adénopathie, cela ramènerait un pus crémeux très pauvre en bacilles.

## **PRÉLÈVEMENT DE SANG CAPILLAIRE**

### **Matériel nécessaire :**

Un vaccinostyle, désinfectant et coton.

### **Mode opératoire :**

Le prélèvement de sang capillaire est surtout pratiqué pour la recherche de paludisme ou de trypanosomes. On peut aussi l'utiliser pour mesurer l'hématocrite

Désinfecter le doigt avec le coton imbibé, laisser sécher, piquer d'un coup sec puis presser le doigt. Pour le paludisme, on pratique le prélèvement de sang capillaire en piquant légèrement le bout du 3<sup>ème</sup> doigt, pendant la montée de fièvre (parasitémie la plus importante). Cependant, pour les jeunes enfants, on préfère prélever au lobe de l'oreille ou au talon.

La première goutte est recueillie sur un coton, la deuxième servant pour l'analyse. Nettoyer le doigt avec le coton à la fin du prélèvement.

On réalise ensuite un frottis ou une goutte épaisse. que l'on colorera suivant les techniques adéquates.

Dans le cas d'une recherche de trypanosomes, c'est la première goutte qui servira à l'analyse.

## **PRÉLÈVEMENT DE SANG VEINEUX**

### **Matériel nécessaire :**

Garrot, seringue et aiguille, désinfectant, coton, sparadrap, tubes avec ou sans anticoagulant, gants.

### **Mode opératoire :**

Le prélèvement se fait habituellement au pli du coude, on peut aussi le réaliser en cas de problèmes sur la face dorsale de la main.

Prévoir tout d'abord les tubes nécessaires, mettre éventuellement l'anticoagulant.

Se munir d'une seringue au volume correspondant aux analyses totales, en comptant 5 ml par tube.

Garrotter le bras du patient, désinfecter la zone cutanée, décoincer une première fois le piston de la

seringue puis le remettre dans sa position initiale. Aboucher la seringue à l'aiguille et piquer la veine. tirer le piston.

Retirer tout d'abord l'aiguille, la jeter dans un récipient destiné aux consommables jetables puis remplir les tubes en commençant toujours par le tube sec, boucher immédiatement tous les tubes et remuer soigneusement ceux contenant l'anticoagulant. Ne jamais remplir de tubes avec une seringue sur laquelle on a pas enlevé l'aiguille (risque d'aérosols, d'éclaboussures et d'expulsion brutale de l'aiguille)

## **PRÉLÈVEMENT DE SELLES**

### **Préalable :**

A effectuer de préférence dans les toilettes du laboratoire sinon apporter le récipient rapidement, enveloppé dans du papier ou du tissu pour éviter le refroidissement. Le prélèvement doit être fait avant la prise de médicaments et en évitant la prise de laxatifs.

### **Matériel nécessaire :**

Un pot à coproculture ou à défaut un pot de yaourt bien propre. Dans certains pays comme dans le sud du Cameroun, on utilise avantageusement une partie de feuille de bananier ou de macabo, propre et lisse, que l'on plie ensuite puis que l'on noue avec un brin de raphia.

### **Mode opératoire :**

Recueillir toutes les selles, les classer en différentes catégories :

1. selles moulées
2. selles pâteuses ou molles
3. selles liquides
4. selles diarrhéiques

Noter la présence éventuelle de mucus, de sang, de pus.

Les selles trop dures seront difficiles à analyser, on ne retrouve pas de formes végétatives de protozoaires, il faut mettre en suspension les matières fécales pour rechercher kystes et œufs, ce qui est long.

Les selles trop liquides diluent les éléments parasitaires, il faut donc tout d'abord centrifuger le liquide pour le concentrer, comme pour la technique du culot urinaire.

### **Désinfection du matériel :**

On peut se reporter aux chapitres d'hygiène et de sécurité.

Les selles doivent être jetées après avoir été décontaminées par de l'eau de javel ajoutée dans le pot de selles. Le matériel à usage unique doit être plongé dans de l'eau de javel avant destruction (penser à séparer lame et lamelle pour récupérer la lame, si on en manque).

## **PRÉLÈVEMENT URÉTRAL CHEZ L'HOMME**

Les prélèvements urétraux sont pratiqués pour différencier les différents types d'infection urétrales. Dans la plupart des cas, l'examen clinique suffit cependant à les différencier.

- Lien vers les prélèvements à effectuer pour rechercher une MST
- Lien vers les MST

### **Matériel :**

Écouvillon, lames, gants

### **Mode opératoire :**

Le patient ne doit pas uriner pendant les 4 heures précédant le prélèvement. Il est conseillé de beaucoup boire la veille. Le patient est prélevé debout. Deux cas peuvent se présenter :

- Présence d'un écoulement purulent : recueil de cet écoulement sur l'écouvillon éventuellement en massant l'urètre pour activer l'écoulement : placer le pouce sur la face inférieure de la verge et tout

en maintenant une pression modérée, remonter sur 5 cm d'un mouvement lent (2 à 3 secondes). Répéter 3 à 5 fois le massage jusqu'à ce que du pus apparaisse au méat.

- Pas ou peu d'écoulement : maintenir le sexe d'une main, de l'autre enfoncer l'écouvillon humidifié de 0.5 à 1 centimètre, le tourner une fois sur lui-même si possible puis retirer délicatement, pour ne pas laisser le bout de coton dans l'urètre. C'est un prélèvement très douloureux, surtout en présence d'une infection, il est donc recommandé de le faire avec soin pour ne pas être obligé de recommencer.

L'écoulement est recueilli directement sur 3 ou 4 lames. On procède ensuite à un examen direct et à un étalement sur lame en vue d'une coloration (Gram, MGG, Giemsa, Bleu de méthylène).

## PRÉLÈVEMENT D'URINE

Le prélèvement d'urine peut permettre d'effectuer :

- l'analyse biochimique de l'urine par bandelettes urinaires
- l'analyse cytologique du culot urinaire
- certaines analyses biochimiques.

Dans tous les cas le prélèvement doit être effectué avec soin.

### **Matériel :**

Un flacon pour analyse d'urine ou à défaut un récipient fermé propre et sec.

### **Mode opératoire :**

Le recueil des urines a lieu sur les urines du matin et avant tout traitement anti-infectieux.

L'homme se décalotte ou la femme écarte les lèvres. Le patient commence à uriner, puis, **sans cesser d'uriner**, il approche le flacon du jet, le remplit et, **toujours sans cesser d'uriner**, le retire du jet, ferme le flacon, se lave les mains et rince l'extérieur du récipient.

Ce moyen de recueil permet d'obtenir une urine la plus proche possible de l'urine vésicale, et débarrassée des souillures que l'urètre peut contenir.

On peut dans certains cas demander spécialement une analyse sur l'urine premier jet, dans ce cas le patient commence à uriner directement dans le flacon. Ce mode de recueil est considéré comme un prélèvement urétral.

### **Cas particulier de la recherche d'œufs de Schistosoma haematobium :**

Il est conseillé au patient de sautiller pendant quelques minutes comme s'il "sautait à la corde" (non, ce n'est pas une blague !) afin de décrocher les œufs coincés dans la muqueuse vésicale. Cette méthode augmente beaucoup le rendement de l'examen.

### **Prélèvement des urines de 24 heures :**

Pour mesurer la clairance de la créatinine ou exprimer la protéinurie en mg/jour, on pratique un prélèvement d'urine de 24 heures. Il est donc préférable que le malade reste une journée et deux nuit à proximité du laboratoire, ou qu'il effectue ce prélèvement chez lui, si on lui a bien expliqué.

Le matin, faire uriner le malades dans les latrines. Il doit boire normalement pendant l'épreuve.

Recueillir ensuite dans une grande jarre (minimum 3 litres) toutes les urines de la journée, de la nuit et enfin celles du petit matin au réveil.

Boucher la jarre, puis l'agiter. Mesurer précisément le volume en ml grâce à une éprouvette graduée en plastique de 2000 ml.

Procéder ensuite à un dosage de la créatinine urinaire.

## PRÉLÈVEMENT VAGINAL ET URÉTRAL FEMININ

Les prélèvements vaginaux permettent de différencier les différents types d'infections vaginales : parasitaires, mycosiques ou bactériennes. Ils permettent aussi le diagnostic de certaines MST

### **Matériel :**

Spéculum en inox stérilisé, gants, 2 écouvillons stériles, lames

### **Mode opératoire :**

Il est conseillé d'apprendre ce geste médical auprès d'une sage-femme ou d'un infirmier compétent avant d'opérer soi-même.

La patiente est allongée, de préférence sur une table gynécologique, ou à défaut sur un lit, et plie les genoux en écartant les cuisses.

- Passer le spéculum sous de l'eau tiède et propre afin de favoriser sa lubrification et détendre la patiente.
- Le spéculum est introduit verticalement, délicatement et en position fermée dans le vagin en prenant appui sur le bas de la fourchette. Lorsqu'il est introduit au 3/4, le retourner délicatement afin de le mettre en position horizontale.
- Presser légèrement le spéculum avec la main pour écarter les parois afin de chercher le col de l'utérus. Lorsque il est repéré, commencer à visser doucement afin d'écarter les mors., cesser de visser avant la pleine ouverture.
- Avec le premier écouvillon, prélever autour du col (gonocoques, trichomonas).
- Avec le deuxième écouvillon, prélever délicatement le col lui-même (chlamydiae) en appuyant fermement l'écouvillon sur l'orifice et en lui imprimant un mouvement rotatif. Si il y a du mucus sur l'orifice (phénomène physiologique) l'enlever grâce à une gaze stérile montée sur une pince avant de prélever.
- L'aspect du col doit être décrit pour le compte-rendu final de l'examen
- Replacer les écouvillons dans leur étui sans toucher l'ouverture.
- Retirer le spéculum en commençant par le dévisser un peu (pas jusqu'au bout, cela pourrait coincer de la muqueuse vaginale entre les mors du spéculum) puis en le tirant tout en effectuant un quart de tour pour le remettre en position verticale. Le placer dans un bac contenant de la Javel.

On procède ensuite à un examen direct et à un étalement sur lame en vue d'une coloration de Gram et de Giemsa.

Il est à noter que la présence de sang au niveau du col, lors du prélèvement fait suspecter la présence de chlamydiae.

On peut aussi noter le pH vaginal à l'aide d'un papier pH appliqué sur la muqueuse de la paroi vaginale (échelle 4-8), et pratiquer un test à la potasse

**Nettoyage du spéculum** : se reporter au chapitre concernant l'hygiène et la sécurité

Le spéculum doit être immergé dans de la javel puis stérilisé à nouveau avant utilisation. Il est donc conseillé d'en posséder 2 ou 3 .

## TECHNIQUES GÉNÉRALES

- Anticoagulants utilisés
- Conservation d'une préparation
- Envoi de prélèvements
- Etalement d'un liquide biologique
- Examen direct d'un prélèvement
- Fixation d'un étalement
- Frottis sanguin
- Utilisation de la centrifugeuse à main
- Utilisation du microscope solaire.

### ANTICOAGULANTS UTILISES

Récapitulatif des différents anticoagulants

On effectue tout d'abord un prélèvement de sang veineux

#### Sur EDTA

- Numération Globules rouges
- Numération Globules blancs
- Numération plaquettes
- Numération réticulocytes

- Hématocrite
- Etalement sanguin (formule sanguine, recherche d'hématies anormales, identification de certains parasites : plasmodium, microfilaires et trypanosomes).
- Vitesse de sédimentation.

#### Sur citrate

- Coagulation
- Plaquettes agrégeant spontanément sur EDTA (5-10 % de la population)
- Déficit en G6PD

#### Sur tube sec (sans anticoagulant)

- Transaminases : ASAT (GOT), ALAT (GPT)
- Créatinine, urée, glucose, bilirubines
- Protéines, ionogramme

Formule des différents anticoagulants :

#### EDTA :

- Sel dipotassique d'EDTA 20 g
- Eau distillée fraîchement bouillie QSP 200 ml

Transvaser à la pipette 100 µl de cette solution dans de petits récipients (ou tubes) destinés à recueillir 5 ml de sang.

On peut même aspirer une petite quantité de cette solution dans des pipettes Pasteur puis la rejeter et laisser sécher les parois internes. Laisser sécher l'anticoagulant en plaçant ces récipients pendant une nuit sur un plan de travail chaud ou dans une étuve .

Bien secs puis bouchés hermétiquement, les tubes ou les pipettes se conservent plusieurs années

#### Citrate de Na :

- Citrate trisodique (ou dihydrate ou pentahydrate) anhydre 3,8 g
- Eau distillée QSP 100 ml

A conserver au réfrigérateur pendant 2 mois. Lorsque l'on utilise peu cet anticoagulant, on peut ne préparer que le dixième de la solution (0.4 g + 10 ml).

On utilisera cette solution en la diluant au sang dans la proportion de 1 ml pour 4ml de sang (ou 0,4 ml pour 1,6 ml de sang). La dilution est à prendre en compte lors d'une numération de plaquettes.

#### Fiche technique :

| ANTICOAGULANTS    | Dosage | Cond   | Prix          | Revend | Référence | Valeurs pour 10 tubes      | Citrate | EDTA   |
|-------------------|--------|--------|---------------|--------|-----------|----------------------------|---------|--------|
|                   |        |        |               |        |           | Temps de manipulation      | 2       | 2      |
| EDTA              | solide | 250g   | 46 F          | Fisher | A4707258  | Temps d'incubation         | 0       | 24 h.  |
|                   | pour   | 25000  | tubes         |        |           | Frais d'eau distillée      | 0.02 F  | 0.02 F |
|                   | soit   | 0.02 F | pour 10 tubes |        |           | Frais de chauffage         | - F     | - F    |
|                   |        |        |               |        |           | Consommables + étalon      | - F     | - F    |
| Citrate de sodium | solide | 500g   | 153 F         | Fisher | A4321155  | Total frais annexes        | 0.02 F  | 0.02 F |
|                   | pour   | 12500  | tubes         |        |           | Coût en réactif / 10 tests | 0.10 F  | 0.02 F |
|                   | soit   | 0.10 F | pour 10 tubes |        |           | Forfait technicien         | 0.50 F  | 0.50 F |
|                   |        |        |               |        |           | Total général              | 0.62 F  | 0.54 F |

#### CONSERVATION D'UNE PRÉPARATION

**Matériel :**

Öse, paraffine ou vernis à ongle transparent, lamelle de grande taille, baume du Canada, chiffon.

**Lame d'examen direct :**

Déposer grâce à une öse chauffée une goutte de paraffine aux quatre coins de la lamelle.

Laisser solidifier puis déposer de la même manière de la paraffine sur les quatre bords de la lamelle afin que la préparation soit hermétiquement close.

La paraffine peut être remplacée par du vernis à ongle transparent (moins cher et plus facile à trouver).

**Lame colorée :**

Nettoyer soigneusement et délicatement la lame pour éventuellement enlever l'huile à immersion recouvrant la préparation.

L'utilisation de solvant comme le toluène ou le xylène (pourtant souvent nécessaire pour dégraisser les lames) est déconseillée, étant donné les moyens inexistantes de récupération et de recyclage de ces solvants dangereux dans les pays concernés.

Déposer une goutte de la taille d'une tête d'allumette de baume du Canada sur la lame puis poser délicatement la grande lamelle sur la goutte. Chauffer délicatement la lame sans faire bouillir (mouvements de va et vient) afin que le baume diffuse partout sous la lamelle

Essuyer le surplus de baume avec le chiffon propre et sec sans faire bouger la lamelle.

Laisser soigneusement sécher.

Identifier les lames grâce à une étiquette et les ranger dans une boîte close et à l'abri de la lumière afin de se constituer une boîte de collection. Noter sur un cahier le numéro des lames, le contexte clinique et les résultats.

**ENVOI DE PRÉLÈVEMENTS**

Il peut être nécessaire d'envoyer certains prélèvements dans des laboratoires de biologie de plus grande importance ou spécialisés dans un domaine, pour y réaliser des analyses non effectuées sur place.

Dans tous les cas, les liquides et tissus biologiques doivent être expédiés de telle sorte que leur transport ne représente aucun risque pour toutes les personnes amenées à manipuler le colis. Ces spécimens doivent aussi parvenir dans les meilleures conditions pour l'analyse à venir.

Les flacons, tubes et boîtes utilisés doivent être solides et pouvoir bien fermer. Les bouchons des tubes seront fixés aux tubes grâce à de l'adhésif. Tous les échantillons doivent être placés dans une boîte contenant une matière absorbante (coton, "chips" d'emballage, mousse...).

Les examens à visée sérologiques seront spécialement bien calfeutrés.

Dans tous les cas, une feuille de demande doit accompagner chaque prélèvement, elle comportera obligatoirement :

- Nom, prénom, âge, sexe et adresse du malade.
- Date et heure du prélèvement.
- Identité du préleveur
- Examens demandés

Dans le cas de prélèvements sanguins, l'idéal est de pouvoir prélever le sang de manière stérile. Les systèmes Vacutainers sont spécialement conseillés dans ce cas. Cependant, leur coût et leur distribution rendent leur utilisation aléatoire. On procédera donc à la stérilisation de tubes secs et de tubes contenant de l'EDTA. Le recueil du sang, son transvasement dans le tube, sa centrifugation puis la décantation éventuelle seront effectués de manière stérile.

Certaines analyses (bilans hormonaux entre autre) nécessitent une centrifugation rapide suivie d'une décantation du sérum puis d'une congélation immédiate. On appliquera ensuite toutes les recommandations de la chaîne du froid afin que le sérum arrive congelé au laboratoire destinataire. Il est nécessaire de se renseigner sur les exigences de ce laboratoire destinataire.

**Expédition de produits biologiques :**

- Sang total : utilisé dans le cas de groupages sanguins, de recherche d'hémoglobines anormales par techniques électrophorétiques. On utilisera un ou deux tubes de sang recueillis sur EDTA que l'on enverra totalement.
- Sérum : utilisé pour les sérologies (virales, bactériennes ou parasitaires), les bilans hormonaux (thyroïdiens, surrénaliens, pendant la grossesse...), les recherches d'anticorps irréguliers ou les protéines spécifiques. On utilisera un ou plusieurs tubes secs que l'on laissera coaguler puis que l'on centrifugera et que l'on décantera avant l'envoi.
- Urines : utilisé dans le cas d'analyses bactériologiques, de bilans biochimiques et hormonaux divers. Encore une fois, le laboratoire destinataire vous donnera ses recommandations quand au mode de recueil (miction, diurèse des 24 heures), au volume nécessaire, à l'utilisation éventuelle de conservateurs, de flacons opaques ...
- Tissus : généralement conservés dans du formol tamponné, on évitera de plier la pièce dans le flacon. Certains laboratoires préfèrent utiliser du liquide de Bouin.
- LCR : utilisé pour des examens virologiques. Prendre contact avec le destinataire.
- Selles : utilisé pour des examens biochimiques spécialisés (graisse dans les selles) ou pour des examens virologiques (cf. LCR). On pèse généralement une quantité fixe de selles (par exemple 100 g) que l'on envoie dans une jarre à fermeture hermétique.

#### **Retour du résultat :**

Cet aspect reste le problème majeur de l'envoi de prélèvements. De nombreuses personnes sont toujours en attente d'un résultat d'une analyse effectuée sur un prélèvement envoyé ...

L'idéal est de disposer d'un fax, ou encore d'un téléphone (attention aux erreurs téléphoniques, toujours faire répéter deux fois). A défaut, il faudra prendre contact avec des transporteurs locaux pour ramener les résultats, ou envoyer quelqu'un les chercher.

Ne pas envoyer de prélèvements lorsque l'on ne connaît pas le système et le délai de rendu du résultat.

### **ÉTALEMENT D'UN LIQUIDE BIOLOGIQUE**

#### **Préalable :**

Il est préférable de toujours pratiquer les examens sur lame sur des prélèvements frais, les éléments étant ainsi moins altérés. En parallèle à la coloration, on réalise toujours un examen direct entre lame et lamelle "à l'état frais".

#### **Matériel :**

3 lames, pipette pasteur flambée ou öse.

#### **Mode opératoire :**

- Lorsque le prélèvement est un écouvillonnage, décharger l'écouvillon dans 0.5 à 1 ml de sérum physiologique stérile (tube 15 ml en verre, stérilisable) en l'agitant vigoureusement et en l'essorant sur les parois du tube.
- Lorsque le prélèvement est un liquide, cette étape de déchargement est supprimée, on pratiquera éventuellement en plus une numération des éléments cellulaires ainsi qu'une formule leucocytaire sur le frottis.

Déposer une goutte du liquide ou du culot de centrifugation à l'extrémité gauche d'une lame.

Avec une deuxième lame superposant la première, écraser la goutte tout en tirant la deuxième lame vers la droite. Un film de la goutte recouvre la première lame.

Sécher immédiatement en agitant doucement la lame à l'air, il est conseillé de toujours pratiquer au moins deux étalements.

Lorsque le liquide comporte peu d'éléments, on peut le concentrer par la même technique que celle du culot urinaire par centrifugation douce puis écrasement du culot.

**Fixer puis colorer** par la technique préconisée en fonction de ce que l'on recherche:

- Gram
- Giemsa
- MGG
- Ziehl

- Bleu de méthylène
- Lugol

## **EXAMEN DIRECT ENTRE LAME ET LAMELLE**

### **Préalable :**

Il est préférable de toujours pratiquer les examens sur lame sur des prélèvements frais, les éléments étant ainsi moins altérés. En parallèle à l'examen direct entre lame et lamelle à l'état frais, on réalise toujours un étalement sur lame destiné à la coloration.

### **Matériel :**

2 lames, pipette pasteur flambée ou öse.

### **Mode opératoire :**

- Lorsque le prélèvement est un écouvillonnage, décharger l'écouvillon dans 0.5 à 1 ml de sérum physiologique (NaCl à 0.9 %) stérile (tube 15 ml) en l'agitant vigoureusement et en l'essorant sur les parois du tube.
- Lorsque le prélèvement est un liquide, cette étape est supprimée.

Déposer une goutte du liquide au milieu d'une lame, recouvrir d'une lamelle. On peut réaliser 2 examens directs sur la même lame, ne pas oublier de noter les N° au feutre ou mieux au diamant sur les lames. Observer au microscope en commençant par les objectifs à faible grossissement.

Lorsque le liquide comporte peu d'éléments, on peut le concentrer par la même technique que celle du culot urinaire par centrifugation douce puis écrasement du culot.

En faisant délicatement glisser les lamelles dans la Javel avec une petite baguette de bois, on peut faire la coloration sur la même lame après fixation. Attention au marquage des lames, surtout si il y a deux prélèvements par lame.

## **FIXATION D'UNE LAME DEJA ÉTALÉE**

Rappel : une goutte épaisse n'est jamais fixée

### **Principe :**

La phase de fixation d'une lame a toujours lieu après une phase de séchage soigneux en agitant la lame puis en la laissant reposer un peu.

Il existe différentes manières de fixer une lame :

### **Fixation physique :**

Fixation par la chaleur en faisant passer plusieurs fois la lame tenue par une pince au dessus du bec Bunsen. Cette méthode peut être trop brutale, on peut poser la lame sur une plaque en métal chauffée auparavant sur le feu. La température idéale est de 60-70 °C (non tolérable à la main plus d'une seconde).

### **Fixation chimique :**

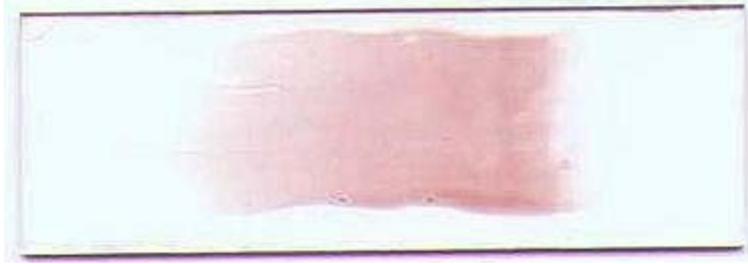
Éthanol ou méthanol à 95° : déposer quelques gouttes pour recouvrir la préparation puis incliner la lame pour éliminer l'excès de liquide. Laisser sécher complètement.

### **Combinaison des deux méthodes :**

Après avoir versé l'alcool sur la lame puis incliné la lame pour évacuer l'excès de liquide, enflammer la mince couche restante. Éteindre en agitant si la flamme dure plus de 2 à 3 secondes.

Après toute fixation, il est préférable de réhydrater légèrement le frottis en déposant 2 à 3 gouttes d'eau que l'on rejette ensuite. Laisser sécher.

## FROTTIS SANGUIN



### Principe :

Le frottis sanguin consiste en la réalisation d'un étalement monocellulaire des éléments sanguins.

### Matériel :

2 lames, un vaccinostyle.

### Mode opératoire :

- Prélever une petite goutte de sang capillaire et la déposer à l'extrémité d'une lame (l'autre extrémité étant réservée à la goutte épaisse dans le cas de la recherche de paludisme).
- Avec la deuxième lame tenue à 45 degrés par rapport à la première, toucher la goutte de sang puis l'étaler d'un mouvement bref sur la première lame pour obtenir un étalement fin. Sécher aussitôt en agitant la lame.
- Fixer le frottis avant coloration, (le plus souvent au MGG) sans fixer la partie de la lame réservée à la goutte épaisse.

## UTILISATION DE LA CENTRIFUGEUSE A MAIN

Une centrifugeuse à main peut avantageusement remplacer une centrifugeuse électrique, soit parce qu'il n'y a pas d'électricité disponible, soit parce que la source d'électricité provient d'un groupe électrogène qu'il est inutile d'allumer pour un simple culot urinaire...

### Quelques règles d'ordre général :

- Toujours fixer la centrifugeuse bien droite sur une table stable et lourde, de préférence elle-même fixée aux murs ou au sol.
- Bien équilibrer le poids des plots par rapport à l'axe de la centrifugeuse, de préférence avec une balance (au pire au jugé).
- Toujours bien boucher tous les tubes mis à centrifuger pour éviter la formation d'aérosols de liquides biologiques
- Il est conseillé de porter un masque et des lunettes de protection lors de la centrifugation de liquides hautement contaminables : LCR, liquides provenant de malades contaminés par des virus comme le VIH ou VHB...
- Ne pas essayer de freiner le rotor en fin de centrifugation, il doit s'arrêter seul de tourner.

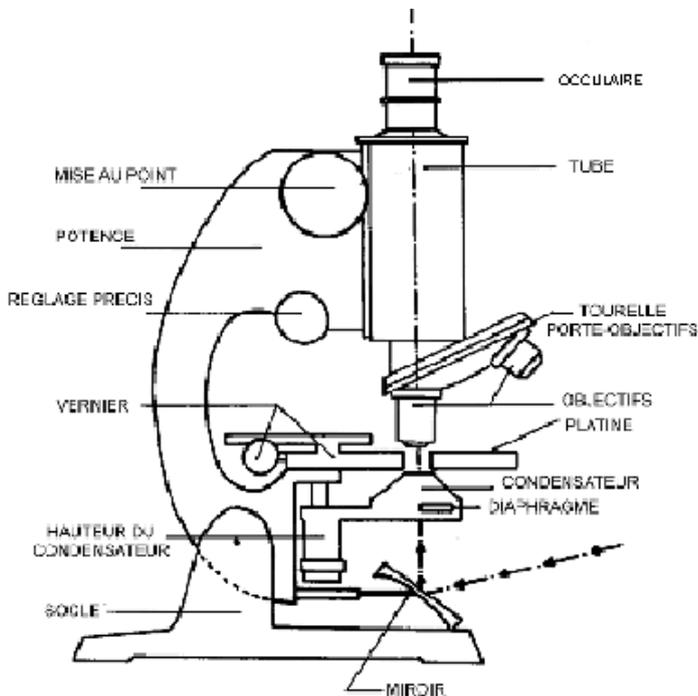
### A propos de la vitesse de centrifugation :

- Pour obtenir un culot cellulaire en vue d'un étalement ou d'une coloration (culot urinaire, culot céphalorachidien, concentration de selles, prélèvement sur écouvillon déchargé dans un liquide ...) il faut veiller à ne pas centrifuger ni trop vite, ni trop longtemps, ni en accélérant brutalement, ceci afin d'éviter d'abîmer les cellules, difficilement reconnaissables par la suite. En général, on préconise :
- Concentration de selles : 1 minute à mi-vitesse (1200-1500 tours / minute)
- Culots en général : 3-5 minutes à mi-vitesse
- Écouvillon déchargé dans un liquide : 2-3 minutes à mi-vitesse
- Pour réaliser un hémocrite de qualité, on doit centrifuger 10 minutes à pleine vitesse, dans le but de se rapprocher le plus possible des 3000 tours / minute qui sont théoriquement à la portée d'une centrifugeuse à main. Toute la réussite de l'opération réside dans les muscles du bras du technicien...
- Pour obtenir du sérum ou du plasma en vue d'analyses biochimiques ou sérologiques, on conseille de réaliser une première centrifugation de 3 minutes à pleine vitesse puis on décante le surnageant que l'on centrifuge une deuxième fois à pleine vitesse.

## UTILISATION DU MICROSCOPE

Le microscope est l'élément clef du laboratoire, celui grâce à qui nous pouvons réaliser 80% des analyses médicales. Il doit être de bonne qualité, l'argent investi dans un bon microscope n'est pas de l'argent perdu, un microscope de qualité bien entretenu et bien stocké peut être opérationnel pendant 30 ans. Préférer un microscope mixte électrique et solaire, si possible binoculaire. Il doit impérativement être accompagné des objectifs 4, 10, 40 et 100 à immersion.

### Description du microscope :



### Utilisation du microscope :

- Commencer toujours par regarder la préparation à faible grossissement pour repérer les zones intéressantes.
- Utiliser l'objectif 25 pour affiner un diagnostic.
- Utiliser l'objectif à immersion pour les recherches de paludisme, les formules leucocytaires, les détails de kystes de protozoaires.

### Entretien du microscope :

- Maintenir le microscope couvert d'une housse propre en tissu ou en matière plastique en dehors des périodes d'utilisation.
- Veiller plus particulièrement à protéger le microscope de la poussière en saison chaude et sèche.
- Veiller plus spécialement à protéger les lentilles et les prismes du microscope

contre le développement des moisissures en saison chaude et humide.

- Conserver le microscope dans une boîte spéciale, débarrassée de son humidité, éventuellement grâce à des cristaux de potasse (achetés ou récupérés dans les boîtes de MEG : sachets ou capsules). Attention à la toxicité du produit.
- Dans les régions où il n'y a pas l'électricité, installer une étagère destinée à recevoir la boîte du microscope à environ 30cm au-dessus de la bouche d'évacuation du réfrigérateur ou du congélateur à gaz ou à pétrole: on peut ainsi la maintenir suffisamment au sec pour protéger les lentilles contre les moisissures.
- Nettoyer tous les jours l'objectif à immersion pour enlever l'huile à immersion: utiliser un chiffon doux et polir avec un chiffon propre ne peluchant pas.
- Nettoyer les oculaires avec un chiffon doux non pelucheux ou du papier d'essuyage optique.
- En cas d'apparition de moisissures dans les optiques, on peut essayer de les laver avec un chiffon non pelucheux imbibé de salive, ce qui peut les faire disparaître.
- Rappeler le numéro de référence du modèle et si possible celui de l'instrument et de la pièce lors des commandes de pièces détachées

### Ce qu'il ne faut pas faire :

- Ne pas employer le papier ou le chiffon utilisé pour l'objectif à immersion pour nettoyer les oculaires.
- Contaminer les objectifs sans immersion avec de l'huile : elle pénétrerait dans l'objectif qui deviendrait vite inutilisable.
- Ne pas employer d'alcool pour nettoyer les surfaces peintes du microscope.
- Ne pas laisser vides les supports destinés à recevoir les lentilles; boucher l'ouverture avec le capuchon prévu à cet effet ou à défaut avec du sparadrap.
- Ne pas intervertir les lentilles appartenant à des microscopes de fabrication différente, il arrive même que des modèles produits par un même fabricant aient des caractéristiques différentes.

# TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES

- Coloration au bleu de méthylène
- Coloration au Lugol
- Coloration de Giemsa
- Coloration de Gomori-Grocott
- Coloration de Weber
- Concentration en tube de Wood
- Concentration selon Bayermann
- Concentration selon Ho Thi Sang
- Concentration selon Kato et Miura
- Concentration selon Ritchie
- Coproculture
- Milieux de culture adaptés aux filaments mycéliens
- Recherche d'éléments mycéliens
- Technique de la goutte épaisse
- Test de Mazzotti

## COLORATION AU BLEU DE MÉTHYLÈNE

La coloration au bleu de méthylène est une coloration rapide, économique et d'usage courant

### Utilisation :

Selles : recherche de formes végétatives d'amibes

- Déposer une goutte de bleu de méthylène sur la lame identifiée ;
- Prendre un petit morceau de selle à l'aide de la spatule ;
- Mélanger l'échantillon à la goutte de bleu de méthylène ;
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air ;
- Observer rapidement la préparation au microscope, à l'objectif x40

Prélèvement vaginal: recherche de formes végétatives de Trichomonas vaginalis

- Même procédure que pour les selles en déchargeant tout d'abord l'écouvillon dans 0.5 - 1 ml de sérum physiologique stérile et en l'essorant contre les parois du tube.
- On prélève ensuite une goutte du liquide que l'on mélange au bleu.

Prélèvements divers : coloration des cellules, des bactéries et des éléments mycéliens.

Pour les prélèvements sur écouvillon, même procédure que pour les prélèvements vaginaux.

### Bleu de méthylène :

- Bleu de méthylène 0.1 g
- Sérum physiologique QSP 100 ml

Mélanger les cristaux et le liquide jusqu'à dissolution complète des cristaux. Filtrer une petite partie du liquide réagité avant chaque utilisation.

L'idéal est de pouvoir laisser le bleu de méthylène s'oxyder pendant quelque semaines avant utilisation pour pouvoir obtenir une espèce de coloration "métachromatique". Pour cela, boucher le flacon avec un morceau de coton cardé et non avec le bouchon standard hermétique.

## COLORATION AU LUGOL

### Principe :

La coloration au Lugol permet de mettre en évidence les kystes de protozoaires, spécialement d'amibes. Elle permet aussi la mise en évidence d'inclusions de Chlamydiae dans les cellules épithéliales (rarement utilisé).

**Matériel :**

Lugol, lames, lamelles, bâtonnets.

**Mode opératoire :**

On réalise en parallèle une coloration au Lugol et un examen direct non coloré mais éventuellement concentré.

- Déposer sur la lame identifiée une goutte de Lugol et une goutte d'eau physiologique (ou sur 2 lames distinctes).
- Déposer un petit morceau de selles ou le culot de concentration par une technique de Kato ou Ritchie dans chaque goutte.
- Mélanger chaque préparation et la recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de trop de bulles d'air (en avoir un peu permet de faire la mise au point facilement).
- Observer la préparation au microscope, à l'objectif x40 : les kystes sont colorés en jaune-brun. Les membranes nucléaires et caryosome sont brun foncé tandis que les vacuoles se teintent en brun-rougeâtre.

**Lugol :** (aussi appelé colorant iode - iodure)

- Iode 1 g
- Iodure de potassium 2 g
- Eau distillée QSP 1000 ml

Dissoudre d'abord l'iodure de potassium dans environ 30 ml d'eau distillée, ajouter l'iode et mélanger jusqu'à dissolution. Ajouter le reste d'eau distillée, mélanger, Conserver dans un flacon en verre brun (à l'abri de la lumière) ou dans un flacon normal à bouchon noir entouré de papier aluminium.

**COLORATION DE GIEMSA****Principe :**

La solution de Giemsa est utilisée, entre autre, pour la coloration de protozoaires (*Giardia*, *Trichomonas*, *Plasmodium*)

**Matériel :**

Lames d'étalement fixées (pas la goutte épaisse) ou très sèches, cuve à coloration, Giemsa, chronomètre.

**Mode opératoire :**

- Placer les lames dans la cuve, la remplir doucement de Giemsa dilué (solution de travail).
- Laisser colorer pendant une demi-heure à l'abri de la lumière
- Verser de l'eau dans la cuve pour éliminer une partie du colorant ainsi que l'écume formée en surface.
- Vider le reste du liquide et rincer à l'eau. Sécher les lames et observer au microscope à l'objectif 40 ou 100 à immersion dans le cas de plasmodium.
- Dans le cas de frottis pour recherche de *plasmodium*, les noyaux leucocytaires sont violet foncé, la chromatine du plasmodium est rouge foncé et son cytoplasme bleu pâle.

**Solution mère de Giemsa :**

- Colorant de Giemsa en poudre 0,75 g
- Méthanol (CH<sub>3</sub>OH) 65 ml
- Glycérol 65 ml

Préparation :

- Commencer par verser le méthanol dans un flacon contenant des billes de verre (ou des petits galets très propres) puis ajouter la poudre et la laisser doucement se déposer au fond du flacon.
- Agiter ensuite pendant 3 minutes de manière circulaire.
- Ajouter enfin le glycérol et mélanger de la même manière. Remuer ensuite, toujours de cette manière 3 fois par jour, pendant 4 jours consécutifs.
- Filtrer. Noter la date de fabrication.

Une solution mère se conserve trois mois à l'abri de l'air (bien boucher), de la lumière (en flacon opaque) et de l'humidité (au dessus du réfrigérateur).

**Solution de travail de Giemsa :**

Diluer la solution mère au dixième dans de l'eau. Bien mélanger.

**COLORATION DE GOMORI-GROCOTT PAR LA METHODE DE MUSTO**

Note : il existe une variante plus simple et plus rapide de cette coloration, elle nécessite cependant un four à micro-ondes.

**But :**

Mise en évidence des kystes de *Pneumocystis carinii*. Cette méthode est la méthode de référence, mais elle est difficile, chère et longue. Elle est donnée à titre indicatif.

**Matériel nécessaire :**

Un petit portoir à lames en métal, une petite casserole en aluminium, une petite casserole en verre transparent pyrex, 15 bacs à coloration, eau distillée, thermomètre, chronomètre, pince pour le portoir, bleuet butagaz, alcool à 95°, alcool absolu. Réactifs. Gants et **masque**.

**Préparation des 15 bacs :**

- 6 bacs contenant de l'eau distillée, numérotés de E1 à E6
- 1 bac contenant une solution de bisulfite de sodium à 1 % (B1)
- 1 bac contenant une solution de chlorure d'or à 0.2 % (B2)
- 1 bac contenant une solution de thiosulfate de sodium à 2 % (B3)
- 1 bac contenant une solution de vert lumière à 1 % (B4)
- 1 bac d'alcool à 95° (B5)
- 2 bacs d'alcool absolu (B6-B7)
- 2 bacs de méthylcyclohexane (B8-B9)

Ces réactifs se conservent bien, à l'abri de la lumière.

**Autres réactifs :**

1. Solution mère d'hexaméthylèneamine-argent :  
Mélanger 27 g d'hexaméthylèneamine, 45 ml d'une solution de nitrate d'argent à 5 % et 900 ml d'eau distillée. Cette solution se conserve 6 mois au réfrigérateur et à l'abri de la lumière.
2. Solution extemporanée d'hexaméthylèneamine-argent
3. Solution extemporanée d'acide chromique à 5 %

**Coloration :**

1. Disposer les lames sur le portoir en métal.
2. Dans la casserole en aluminium, mélanger 15 grammes d'acide chromique à 300 ml d'eau distillée. Chauffer en mélangeant et en vérifiant la température au thermomètre. A 65°, enlever la casserole du feu.
3. Plonger le portoir pendant une minute **exactement** dans la casserole.
4. Laver successivement dans les bacs E1 et E2.

5. Pendant le lavage, préparer la solution extemporanée d'hexaméthylèneamine-argent : dans la casserole transparente, mélanger 100 ml d'eau, 8 ml de borate de sodium à 5 %, 60 ml de DMSO et 100 ml de solution mère. On obtient une solution blanc-gris opaque.
6. Après le lavage, plonger le portoir dans le bac B1 pendant une minute **exactement**.
7. Placer ensuite le portoir dans la casserole transparente et faire chauffer en mesurant la température (avec un thermomètre propre !). Enlever la casserole à 90°.
8. Sortir le portoir de la casserole lorsque les lames deviennent légèrement marron.
9. Laver successivement dans les bacs E3 et E4.
10. Plonger le portoir pendant 1 minute dans le bac B2, laver rapidement dans E5.
11. Plonger le portoir pendant 1 minute dans le bac B3, laver rapidement dans E6.
12. Plonger le portoir pendant 5 minutes dans le bac B4, laver doucement au robinet jusqu'à élimination du vert en excès.
13. Passer successivement pendant 1 minute dans les bacs B5 à B9.

#### **Observation :**

Observer aux objectifs 10 et 40 puis à l'immersion. La lecture est longue, elle est réservée à des techniciens avertis.

On observe des petits kystes de diamètre 3.5 à 5 µm, bruns ou noirs sur fond vert, arrondis ou en cupule. Leur paroi régulière peut présenter un point d'épaississement réalisant une "image en parenthèse".

#### **Lavage de la vaisselle :**

Le contenu des deux casseroles doit être jeté séparément dans des bidons en plastique prévus spécialement pour eux. Ils sont ensuite à évacuer vers un centre spécialisé.

Rincer la casserole en aluminium à l'eau.

La casserole transparente est remplie d'eau additionnée d'une giclée d'HCl concentré. Laisser agir une nuit puis rincer à l'eau puis à l'eau distillée.

## **COLORATION DE WEBER**

La coloration de Weber ou coloration au trichrome modifié, est utilisée pour la recherche des microsporidies dans les selles. Cette coloration, de réalisation difficile, est assez chère. Elle ne fait pas partie des analyses de première nécessité. Cependant, étant donné l'augmentation vertigineuse du nombre des personnes VIH positives dans les pays en développement, la recherche des microsporidies peut être utile au clinicien.

#### **Mode opératoire :**

- Diluer 1 volume de selle dans 2 volumes de formol à 10 %, bien mélanger.
- Étaler sur une lame, au besoin en plusieurs fois, au minimum 5 ml de cette dilution puis laisser sécher.
- Immerger les lames pendant 90 minutes dans le colorant de Weber.
- Rincer 10 secondes avec un mélange d'acide alcool (200 µl d'acide acétique + 44 ml d'alcool à 90°).
- Tremper les lames 5 minutes dans de l'alcool à 95°.
- Tremper les lames 10 minutes dans de l'alcool absolu.
- Tremper les lames 10 minutes dans du xylène.
- Laisser sécher à l'air

**Colorant de Weber :** les réactifs doivent être commandés spécialement au producteur. On peut cependant essayer de "s'arranger" avec un laboratoire spécialisé dans les analyses à destination des personnes VIH positives.

Dans un flacon de 125 ml, mélanger :

- 6 grammes de chromotrope 2R (Harleco, Gibbstown, N.J., USA)
- 150 mg de Fast green (Allied Chemical and Dye, New York, USA)
- 0.7 gramme d'acide phosphotungstique
- 3 ml d'acide acétique glacial.

Laisser reposer ensuite pendant 30 minutes puis ajouter 100 ml d'eau distillée.

## CONCENTRATION PAR CENTRIFUGATION EN TUBES CAPILLAIRES DE WOOD

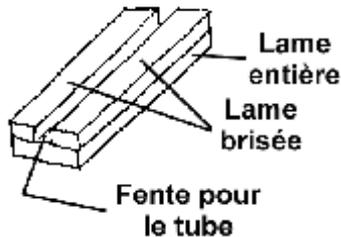
### Principe :

Méthode utilisée pour concentrer le sang en vue de la recherche de trypanosomes.

### Matériel :

Un tube à microhématocrite hépariné par patient, cire à boucher, centrifugeuse, petit dispositif à observation :

Prendre 2 lames, en casser une dans le sens de la longueur et coller les deux parties obtenues sur la première comme sur le schéma ci-dessous. La largeur de la fente est légèrement plus grande que le diamètre du tube à microhématocrite.



### Mode opératoire :

Pratiquer un prélèvement de sang capillaire, réaliser l'examen sans attendre (moins de 15 min).

Aspirer le sang dans le tube capillaire, boucher et centrifuger à vitesse maximale pendant au moins 5 minutes.

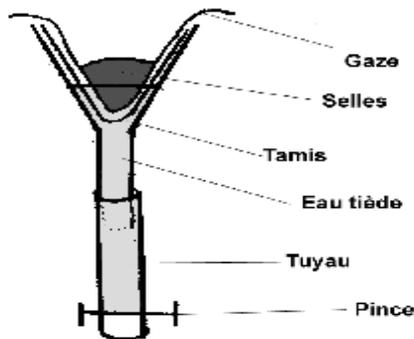
*Montage pour l'observation*

Placer délicatement le tube dans la fente du dispositif d'observation en en faisant dépasser un petit bout pour le tenir. Il ne faut pas attendre (mobilité des trypanosomes).

Déposer une goutte d'huile à immersion au niveau de l'interface globule / plasma et observer à l'objectif 100 tout en faisant tourner le tube sur lui-même pour pouvoir observer toute l'interface.

On peut aussi casser le tube et déposer une goutte de l'interface entre lame et lamelle que l'on observera.

## CONCENTRATION SELON BAYERMANN



### Principe :

Méthode utilisée pour concentrer le sang en vue de la recherche de larves d'anguillules dans les selles

### Matériel :

Entonnoir (de préférence en verre transparent), tamis en métal (facile à fabriquer avec un petit bout de "grillage à lapins"), gaze, tuyau en caoutchouc d'une vingtaine de centimètres de long, pince, lames, gants.

### Principe :

Méthode basée sur l'hydrotropisme et le thermotropisme des larves d'anguillule qui vont migrer dans de l'eau tiède.

### Mode opératoire :

- Emboucher le tuyau à l'entonnoir, y placer le tamis recouvert de gaze puis les selles.
- Fermer le tuyau avec la pince ou avec un bouchon puis remplir l'entonnoir d'eau tiède de façon à ce que l'eau affleure les selles.
- Laisser migrer les larves pendant 3 heures
- Soutirer l'eau (manipuler avec des gants) en enlevant la pince, le déposer dans un tube conique, boucher et centrifuger à mi-vitesse (1500 t/min) pendant 3 minutes.
- Procéder à l'examen direct entre lame et lamelle du culot pour rechercher les larves rabditoïdes.

## CONCENTRATION SELON HO THI SANG

### Principe :

Méthode de concentration appliquée à la recherche de microfilaires sanguicoles.  
On lyse les hématies sans léser les microfilaires afin de concentrer le sang recueilli

### Matériel :

Un tube à centrifuger conique avec bouchon, NaCl 0.9%, solution de saponine à 20 g/l. pipette Pasteur, lame, lamelle.

### Mode opératoire :

- Diluer 2 ml de sang recueilli sous EDTA avec 4 ml de NaCl 0.9 %. Ajouter 3 gouttes de saponine.
- Boucher et agiter le tube doucement par retournement jusqu'à ce que le liquide soit limpide.
- Centrifuger pendant 5 minutes à grande vitesse puis rejeter délicatement le surnageant avec une pipette Pasteur.
- Examiner le culot entre lame et lamelle (objectif 10 )
- Le culot ne comporte que des leucocytes et des microfilaires vivantes. On réalise donc des frottis que l'on colore (MGG) pour identifier les microfilaires.
- La solution de saponine se conserve 3 mois au réfrigérateur, une semaine à l'extérieur à l'abri de l'air et de la lumière. On en fabriquera donc des petites quantités.

## CONCENTRATION SELON KATO ET MIURA

### Principe :

Le but de cette méthode est la confection d'un frottis épais que l'on éclaircit.

### Matériel :

réactif de Kato, un petit cristalliseur; lame, papier filtre, bandes de cellophane.

### Mode opératoire :

- Faire tremper des bandes de cellophane dans le réactif de Kato pendant au moins 24 H, les égoutter avant usage.
- Déposer une petite noisette de selles sur la lame, appliquer dessus une bande de cellophane.
- Retourner et appuyer le montage sur du papier filtre. Laisser une heure à la température du laboratoire.
- Lire sans attendre.

### Utilisation :

Méthode efficace pour la recherche d'œufs d'ascaris et de trichocéphale. Méthode inutilisable pour les kystes et les larves ainsi que les œufs d'ankylostome.

### Variante quantitative :

On peut effectuer une mesure semi-quantitative en calibrant la noisette de selles avec un morceau de carton perforé au diamètre souhaité.

### Réactif de Kato :

- 100 ml eau
- 100 ml glycérine
- 3 gouttes de vert de malachite à 5%

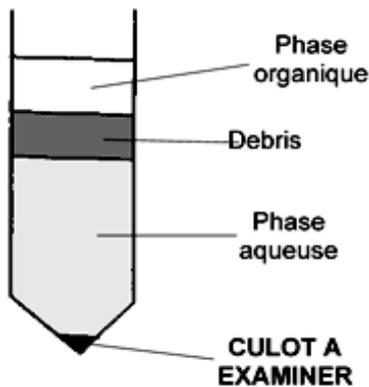
Bien mélanger les trois ingrédients. Conserver en flacon en verre brun.

## CONCENTRATION SELON RITCHIE

**ATTENTION :** la manipulation de l'éther est dangereuse. Veiller à bien éteindre le bec Bunsen et à ne jamais fumer dans le laboratoire.

**Matériel :**

Réactif de Ritchie, éther, verre à pied, tube conique; agitateur, pipette pasteur.



**Mode opératoire :**

Dans le verre à pied, diluer progressivement un volume de selles dans 10 volumes de réactif de Ritchie.

*Résultat de la manipulation*

- Laisser sédimenter quelques secondes, verser dans un tube à centrifuger, le remplir à moitié.
- Ajouter de l'éther dans la proportion de 1/3 pour 2/3 de liquide, boucher puis agiter fortement à la main par retournements successifs pendant 30 secondes, en laissant précautionneusement le gaz s'échapper de temps en temps (aérosols de selles ! miam

miam).

- Reboucher et ranger le flacon d'éther juste après son utilisation.
- Centrifuger pendant 2 minutes à pleine vitesse puis éliminer les trois couches supérieures par retournement brusque pour garder le culot
- Prélever le culot avec une pipette pasteur puis procéder à un examen direct de ce culot.

**Utilisation :**

Cette technique est applicable à la recherche des kystes et des œufs sauf pour les œufs d'ascaris, détruits par cette méthode.

**Réactif de Ritchie :**

- 100 ml de formol.
- 9 grammes de NaCl
- 900 ml d'eau distillée

Mélanger les 3 produits et conserver dans un flacon en verre brun bouché. Bien reboucher le flacon juste après utilisation (les vapeurs de formol sont toxiques).

## COPROCULTURE

**Principe :**

Cette méthode s'applique aux larves d'anguillule et d'ankylostomes.

- Les anguillules sont retrouvées dans les selles à l'état de larves rabditoïdes, en coproculture, elles évolueront en larves strongyloïdes puis en adultes.
- Les ankylostomes sont retrouvés dans les selles à l'état d'œuf, en coproculture, ils évolueront en larves rabditoïdes puis strongyloïdes.

On peut donc ainsi confirmer une anguillulose et faire le diagnostic différentiel avec les ankylostomes

**Matériel :**

Un cristalliseur (diamètre 15 cm) et son couvercle, un petit cristalliseur (diamètre 7 cm), une bande de papier filtre, une pipette de 10 ml, une poire à pipeter, gants.

**Mode opératoire :** Attention, les larves strongyloïdes sont des larves infestantes : il faut mettre des gants.

- Placer la bande de papier dans le petit cristalliseur : elle doit dépasser des 2 côtés. Placer le petit cristalliseur dans le grand.
- Remplir d'eau tiède le grand cristalliseur en veillant à ce qu'il n'y ai pas d'eau dans le petit.
- Placer les selles dans le petit cristalliseur. Mettre le couvercle du grand.
- Le montage doit être placé à une température proche de 30 °C.

- On recherche les larves strongyloïdes d'anguillule à partir du 3 ème jour, celles d'ankylostomes à partir du 7 ème jour. On soutire l'eau à la pipette puis on la centrifuge pendant 2 minutes
- Examen du culot entre lame et lamelle.

## MILIEUX DE CULTURE ADAPTES AUX ÉLÉMENTS MYCÉLIENS

### Milieu de Sabouraud

- Glucose massé.....20g
- Peptone de Chapoteaut.....10g
- Gélose.....20g
- Eau distillé qsp.....un litre

Dissoudre la peptone à chaud, ajouter la gélose en maintenant la température jusqu'à dilution complète, répartir en tubes, stériliser à 115°C.

#### Milieu de Sabouraud additionné d'antibiotique :

Même composition que précédemment mais ajouter avant stérilisation 500mg/l de chloramphénicol ou 50 mg/l de gentamycine.

#### Milieu de Sabouraud additionné d'antibiotique et d'actidione :

En plus de l'antibiotique ajouter toujours avant stérilisation 500mg/l d'actidione (cycloheximide).

#### Milieu pomme de terre - carotte - bile de bœuf

- Pomme de terre pelée.....20g
- Carotte pelée.....20g
- Bile fraîche.....150g
- Gélose.....20g
- Eau ordinaire qsp.....un litre

Mode opératoire :

- Faire macérer les pulpes de carotte et de pomme de terre dans 200 à 300 ml d'eau pendant une heure
- Porter le mélange à 100°C pendant 5 min, filtrer et dissoudre la gélose
- Ajouter la bile puis ajuster à un litre
- Répartir en tubes pyrex de 15 ml et stériliser 15 min. à 115°C.

## RECHERCHE D'ÉLÉMENTS MYCÉLIENS

Ce chapitre concerne les champignons filamenteux. La recherche de *Candida albicans* est abordée dans le diagnostic d'une candidose.

### Principe et but :

Se pratique sur des prélèvements tels que squames, poils, cheveux ...

Le bleu de lactophénol éclaircit notablement la préparation et colore les éléments mycéliens en bleu.

### Matériel :

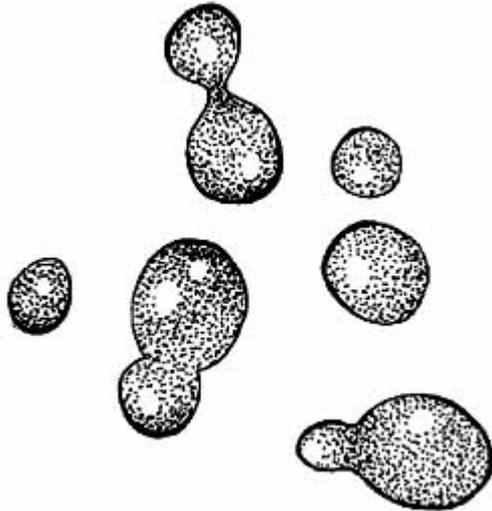
Lames, lamelles, bleu de lactophénol ou à défaut du bleu de méthylène

### Mode opératoire :

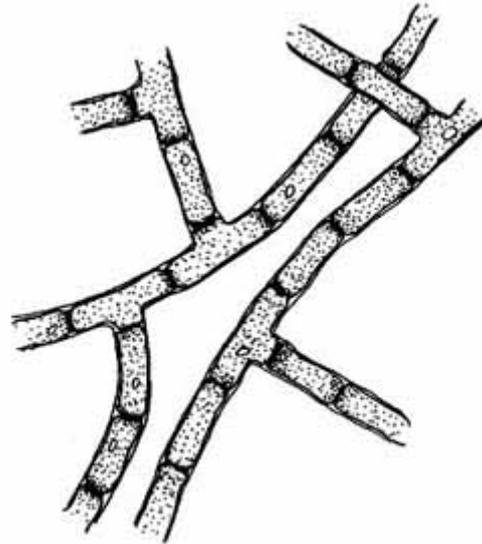
- Déposer le produit pathologique sur une lame de microscope.
- Ajouter une ou deux gouttes de bleu de lactophénol (variable suivant le chauffage).
- Recouvrir d'une lamelle 22X40 mm.

- Saisir le montage à l'aide d'une pince et approcher à 10 cm d'une flamme de bec Bunsen. Attention aux projections ! Ne pas faire bouillir.
- Chauffer pendant 30 secondes, il se dégage des vapeurs blanches.
- Examen à l'objectif 40, immédiatement ou le lendemain (meilleure pénétration du colorant).

On recherche ensuite des éléments mycéliens :



*Levures bourgeonnantes*



*Filaments mycéliens*

**Formule du LactophénoL :**

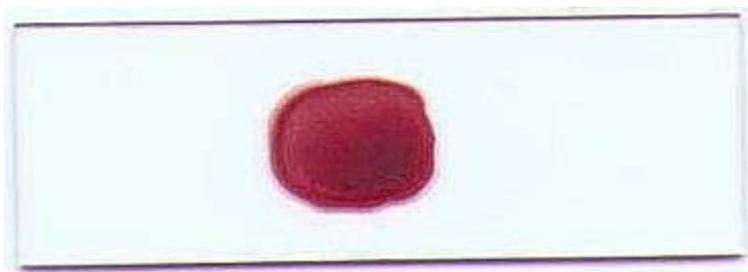
- Acide Phéniqué ou PhénoL liquide.....1vol. ou 20g
- Acide lactique pur.....1vol. ou 20g
- Glycérine.....2vol. ou 40g
- Eau distillé.....1vol. ou 20g

Mélanger et dissoudre en chauffant légèrement puis conditionner dans un flacon brun

**Bleu de lactophénoL :**

- Rajouter au lactophénoL du bleu coton ou du bleu de méthylène à 0.5%

**GOUTTE EPAISSE**



**Principe :**

La goutte épaisse est une technique de concentration des hématies en vue de la recherche de paludisme dans le sang.

*goutte épaisse (avant les gouttes d'eau)*

**Matériel :**

2 lames, un vaccinostyle.

**Mode opératoire :**

- Prélever une grosse goutte de sang capillaire.
- Étaler une grosse goutte de sang à l'extrémité d'une lame (l'autre étant généralement réservée au frottis).

- A l'aide du coin de la deuxième lame, étaler la goutte sur 1 cm de diamètre en tournant pendant quelques secondes.
- Laisser sécher avec soin, ne jamais fixer.
- Déposer quelques gouttes d'eau propre pour recouvrir entièrement la goutte, laisser agir 1 minute puis rejeter.

La goutte épaisse doit être transparente.

**On peut ensuite colorer :**

- MGG
- Giemsa

## **TEST DE MAZZOTTI**

Ce test sert au diagnostic de l'onchocercose.

### **Principe**

L'administration de diéthylcarbamazine (notézine) chez un sujet onchocerquien provoque une réaction allergique vis-à-vis des microfilaires qui sont intensivement mobilisées du derme vers l'épiderme, exacerbant ainsi le prurit. Certaines de ces microfilaires passent dans le sang périphérique et les urines où elles peuvent être retrouvées.

### **Précautions préalables : ATTENTION**

A ne pratiquer qu'en milieu hospitalier après s'être assuré que les autres tests diagnostiques d'onchocercose sont négatifs (biopsie cutanée exsangue) et avoir vérifié l'absence de microfilaires dans la chambre antérieure de l'œil.

Disposer d'antihistaminiques et de corticoïdes injectables en cas d'urgence. Le test est formellement contre-indiqué chez un sujet susceptible d'être atteint de Loase : la lyse massive des microfilaires sanguicoles risque d'entraîner un choc anaphylactique mortel. Certaines publications déconseillent même la réalisation de ce test dans les zones d'endémies de la loase.

### **Réalisation pratique**

Administration d'une dose unique de 50 mg de notézine (1/2 comprimé). Le sujet, maintenu en observation, est examiné 3 h après.

### **Incidents et accidents**

Réactions allergiques brutales, flambée urticarienne, conjonctivite, œdèmes, fièvre pouvant atteindre 40° C pendant plusieurs jours.

### **Résultats**

Le test est positif s'il apparaît, dans les heures qui suivent l'ingestion, une réaction de type allergique associant prurit féroce, urticaire, céphalées, arthralgies. De plus, une recherche des microfilaires dans le sang périphérique ou l'urine s'avère alors positive.

### **Causes d'erreurs**

- Des résultats faussement négatifs sont possibles.
- Les réactions faussement positives sont rares, mais existent notamment lorsque le sujet souffre d'autres filarioses.

### **Interprétation et intérêt**

Ce test ne présente un intérêt que dans les faibles infestations lorsque le dépistage direct des microfilaries par biopsie cutanée exsangue est négatif.

Il est souvent mal supporté par les patients. Certains préfèrent pratiquer actuellement ce test sous couvert d'antihistaminiques et corticoïdes, ce qui masque les signes cliniques mais améliore la sensibilité de la biopsie cutanée exsangue et de l'examen parasitologique des urines effectué par la suite.

## **TECHNIQUES BIOCHIMIQUES**

- Consignes générales
- Dosage de l'albumine sérique (à venir)
- Dosage de la bilirubine
- Dosage du calcium plasmatique et urinaire
- Dosage de la créatinine plasmatique et urinaire
- Dosage du fer sérique (à venir)
- Dosage du glucose sérique et urinaire
- Dosage des protéines plasmatiques
- Dosage des protéines urinaires et céphalo-rachidiennes
- Dosage de l'urée plasmatique et urinaire
- Estimation de la CRP sérique
- Estimation globale de l'osmolarité
- Mesure de la clairance de la créatinine
- Mesure de la densité urinaire
- Mesure du pH
- Recherche de corps cétoniques dans l'urine
- Recherche de sels et de pigments biliaires dans l'urine
- Utilisation de bandelettes urinaires
- Utilisation du réfractomètre
- Utilisation du photomètre (à venir)
- Vitesse de sédimentation

### **CONSIGNES GÉNÉRALES EN BIOCHIMIE**

- Pesée des matières premières
- Étalons et droites d'étalonnage

#### **Pesée des matières premières :**

La pesée est un élément important de la fabrication des réactifs de biochimie. On peut distinguer deux classes de pesées :

1- Supérieure à 1 gramme :

On peut utiliser une petite balance électronique monoplateau fonctionnant sur pile, de coût assez modeste (250 FF). Certains modèles garantissent même une pesée jusqu'à 0.1 gramme.

2- Inférieure à 1 gramme :

L'idéal est de posséder une balance type Mettler monoplateau. Elles fonctionnent habituellement avec l'électricité, qui n'est cependant là que pour éclairer la "diapositive" de lecture des milligrammes. Le courant 220 ou 110 Volts est toujours transformé en faible intensité variant entre 4.5 et 12 volts. En enlevant le transformateur après avoir noté sa tension de sortie et en le remplaçant par un nombre suffisant de piles reliées entre elles pour obtenir cette tension de sortie, la balance fonctionne sans électricité.

Lorsque l'on ne possède pas de balance, le technicien de laboratoire doit aller de temps en temps peser ses matières premières dans un hôpital ou un laboratoire voisin en rapportant dans des petits sachets plastique annotés, plusieurs pesées des substances nécessaires.

#### **Étalons et droites d'étalonnage :**

Les étalons sont primordiaux pour de bonnes analyses biochimiques. Il est rare que l'on dispose d'étalons à coût abordable dans les pays en développement. Il est donc impensable de n'utiliser que ces étalons du commerce. Un panachage avec des étalons "maison" est donc nécessaire :

On utilisera des sérums de différents patients, fraîchement prélevés, coagulés et centrifugés que l'on mélangera dans un petit flacon de 60 ml lavé et stérilisé. Le volume total de sérums mélangés doit être au moins de 40 ml

Ce sérum sera aliquoté à raison de 0.5 ml, dans des petits récipients coniques en matière plastique (type

Eppendorf.) puis congelé.

On gardera 3 millilitres de ce mélange de sérums sur lequel on dosera 3 fois de suite, à partir d'un étalon du commerce correctement reconstitué, les analytes suivants : protéines totales, l'osmolarité, albumine, bilirubine, calcium, fer, glucose et CRP.

Pour la créatinine et l'urée, on utilisera 30 ml d'une dilution d'urine au 1/10 que l'on dosera 3 fois de suite de la même manière.

Les droites Concentration = f(Absorbance) doivent être effectuées impérativement sur papier millimétré. Ensuite, chaque technicien connaîtra la stabilité de ses droites.

## DOSAGE DE LA BILIRUBINE TOTALE ET CONJUGUÉE

### Principe :

La bilirubine du sérum réagit avec de l'acide sulfanilique diazoté pour former un composé coloré.

En présence d'un réactif de couplage (antipyrine ou acétamide), toute la bilirubine réagit.

L'addition d'acide phosphorique avant le couplage ne fait agir que la bilirubine conjuguée.

### Prélèvement :

Réaliser un prélèvement de sang veineux recueilli sans anticoagulant. Centrifuger à pleine vitesse pendant 5 bonnes minutes. Séparer rapidement le sérum des globules grâce à une pastette.

Tout prélèvement hémolysé devra être traité avec suspicion. Si possible, réaliser un nouveau prélèvement.

### Matériel :

6 tubes en verre de 10 ml, réactifs, photomètre.

### Technique :

Utiliser 3 tubes pour le malade et 3 tubes pour la gamme d'étalonnage, valeurs en ml. On part d'un étalon de bilirubine totale de concentration 100 µmol/l.

|   | MALADE |           |        | GAMME D'ÉTALONNAGE (bili. totale) |           |            |
|---|--------|-----------|--------|-----------------------------------|-----------|------------|
| Tube  | Témoin | Conjuguée | Totale | 10 µmol/l                         | 50 µmol/l | 100 µmol/l |
| Sérum ou étalon   | 0.5    | 0.5       | 0.5    | 0.05                              | 0.25      | 0.5        |
| NaCl 0.9 %  |        |           |        | 0.45                              | 0.25      |            |
| Réactif de diazotation  |        | 0.8       | 0.8    | 0.8                               | 0.8       | 0.8        |
| Acide sulfanilique  | 0.8    |           |        |                                   |           |            |
| Mélanger par agitation latérale et laisser reposer 15 minutes |        |           |        |                                   |           |            |
| Réactif de couplage   |        |           | 1.2    | 1.2                               | 1.2       | 1.2        |
| Mélanger et laisser reposer 3 min                             |        |           |        |                                   |           |            |
| Acide phosphorique  | 2.5    | 2.5       | 2.5    | 2.5                               | 2.5       | 2.5        |
| Bien mélanger les tubes                                       |        |           |        |                                   |           |            |
| Réactif de couplage   | 1.2    | 1.2       |        |                                   |           |            |
| Mélanger les tubes  |        |           |        |                                   |           |            |

- Photométrer à 550-560 nm chaque tube en faisant le blanc sur le tube témoin.
- Construire la droite d'étalonnage de type : concentration = f (absorbance)
- Reporter les absorbances obtenues pour les tubes "totale" et "conjuguée" et lire les concentrations.
- Domaine de mesure : 0 -120 µmol/l
- Diluer au quart avec du sérum physiologique si > 120 µmol/l.

On a : Bilirubine libre = bilirubine totale - bilirubine conjuguée

On considère la gamme d'étalonnage stable une dizaine de jours, on passera le point 50 µmol/l comme contrôle lors de dosages répétés pendant ces 10 jours.

**Réactifs :**

Solution d'acide sulfanilique : Solution A

- Dans un flacon de 500 ml, mélanger 250 ml d'eau distillée, 56 ml d'HCl N et 1.9 g d'acide sulfanilique.
- Une fois que l'acide est dissous, compléter à 500 ml avec de l'eau distillée.
- La solution se conserve bien.

Solution de nitrite de sodium : Solution B

- Dissoudre 0.1 gramme de NaNO<sub>2</sub> dans 25 ml d'eau distillée.
- Se conserve 15 jours au réfrigérateur en flacon brun.

Réactif de diazotation : A faire juste avant le dosage, ne pas conserver après usage  
Mélanger 10 ml de solution A avec 200 µl de solution B.

Réactif de couplage :

Dans un flacon de 500 ml, mettre 300 ml d'eau distillée et dissoudre :

- 10 grammes d'acétamide pur (CH<sub>3</sub>CONH<sub>2</sub>)
- 75 grammes d'urée
- 40 grammes d'acétate de sodium cristallisé (CH<sub>3</sub>COONa, 3H<sub>2</sub>O)

Compléter à 500 ml avec de l'eau distillée, le réactif se conserve bien

Solution d'acide phosphorique :

- Dans un flacon de 500 ml, mettre 150 ml de solution d'acide orthophosphorique à 85 % (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)
- Compléter à 500 ml avec de l'eau distillée, le réactif se conserve bien

**Fiche technique :**

|                           |        |         |         |          |          |                          |        |          |
|---------------------------|--------|---------|---------|----------|----------|--------------------------|--------|----------|
| BILIRUBINES T ET D        | Dosage | Cond    | Prix    | Revend.  | Réf.     | Temps de manipulation    | 15     | mn       |
|                           |        |         |         |          |          | Temps d'incubation       | 18     | mn       |
| Acétamide                 | solide | 250g    | 159 F   | Fisher   | A4700308 | Frais d'eau distillée    | 0.30 F |          |
| Acétate de Na cristallisé | solide | 500g    | 101 F   | Fisher   | A4321130 | Frais de chauffage       | - F    |          |
| Acide chlorhydrique       | 36%    | 2,5 l   | 140 F   | Fisher   | A4705202 | Consommables + étalon    | 0.20 F |          |
| Acide phosphorique        | 85%    | 1 litre | 117 F   | Fisher   | A4713501 | Total frais annexes      | 0.50 F |          |
| Acide sulfanilique        | solide | 25g     | 286 F   | Fisher   | A4715505 | Amortisst photomètre     | 1.00 F |          |
| Nitrite de Na             | solide | 250g    | 115 F   | Fisher   | A4896308 | Coût en réactif par test | 0.58 F | bili.T,D |
| Urée                      | solide | 500g    | 106 F   | Fisher   | A4321285 | Forfait technicien       | 0.50 F |          |
|                           |        | TOTAL   | 1 024 F |          |          | Total général            | 2.58 F | bili.T,D |
|                           |        |         |         |          |          |                          |        |          |
| Coût en réactif par test  | 0.58 F | pour    | 6 000   | tests    |          |                          |        |          |
| Poids du kit              | 5 Kg   | soit    | 1 750   | patients | (T + D)  |                          |        |          |

**DOSAGE DU CALCIUM PLASMATIQUE ET URINAIRE**

**Principe :**

Dosage direct du calcium sans déprotéinisation grâce à la formation d'un complexe avec l'ortho crésolphtaléine. L'hydroxy 8 quinoléine évite l'interférence des ions Mg<sup>2+</sup> jusqu'à la concentration de 4 mmol/l.

**Matériel :**

3 tubes neufs de 5 ml, réactifs, photomètre.

Ils est indispensable de prendre des tubes neufs, des cônes de pipette neufs et des flacons à réactifs rincés à l'acide chlorhydrique 1 N (faire tremper 30 minutes) puis rincés à l'eau distillée.

**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de sang veineux recueilli sans anticoagulant. Centrifuger et recueillir le sérum. Pour les urines, préférer un échantillon de 5 ml d'urines de 24 heures homogénéisées que l'on centrifugera rapidement.

**Technique :** On préférera un étalon à 2.5 mmol/l (milieu des valeur normales)

|   | BLANC | ÉTALON | SÉRUM | URINE |
|---|-------|--------|-------|-------|
| Sérum, urine ou étalon  |       | 20 µl  | 20 µl | 10 µl |
| NaCl 0.9 %  |       |        |       | 10 µl |
| Réactif final   | 1 ml  | 1 ml   | 1 ml  | 1 ml  |
| Mélanger les tubes, photométrer après 5 minutes à 570-580 nm. |       |        |       |       |

- La coloration obtenue est stable une heure.
- Calcul de la concentration, C étant la concentration de l'étalon :

$$[(\text{Absorbance patient}) / (\text{Absorbance étalon})] \times C$$

- Les mesures sont linéaires de 0 à 4 mmol/l. Diluer en conséquence.

**Réactifs:**

Réactif de coloration : mélanger dans 500 ml d'eau distillée :

- Ortho crésolphtaléine : 52 mg
- 8-hydroxyquinoléine : 0.75 g

Réactif alcalin (pH >11) : mélanger dans 500 ml d'eau distillée :

- Amino 2 methyl 2 propanol 1 : 21.6 g

Ces deux réactifs sont stables 2 mois à température ambiante et 6 mois au réfrigérateur.

Le réactif final est obtenu en mélangeant ces deux réactifs en parties égales. Stabilité de 10 jours à température ambiante et d'un mois au réfrigérateur.

**Fiche technique :**

| CALCIUM                   | Dosage | Cond  | Prix    | Revend.  | Référence | Temps de manipulation    | 7      | mn |
|---------------------------|--------|-------|---------|----------|-----------|--------------------------|--------|----|
|                           |        |       |         |          |           | Temps d'incubation       | 5      | mn |
| Ortho crésolphtaléine     | solide | 25g   | 261 F   | Fisher   | A4776055  | Frais d'eau distillée    | 0.02 F |    |
| 8 hydroxyquinoléine       | solide | 100g  | 256 F   | Fisher   | A4824357  | Frais de chauffage       | - F    |    |
| Amino 2 méthyl 2 propanol | solide | 500g  | 575 F   | Sigma    | A5888     | Consommables + étalon    | 0.50 F |    |
|                           |        | TOTAL | 1 092 F |          |           | Total frais annexes      | 0.52 F |    |
|                           |        | pour  | 22 000  | tests    |           | Amortissement photomètre | 1.00 F |    |
|                           |        | soit  | 15 000  | patients |           | Coût en réactif par test | 0.07 F |    |
| Coût au test par patient  | 0.07 F |       |         |          |           | Forfait technicien       | 0.50 F |    |
| Poids du kit              | 0.7 Kg |       |         |          |           | Total général            | 2.09 F |    |

## DOSAGE DE LA CRÉATININE PLASMATIQUE ET URINAIRE

### Principe :

La créatinine forme un complexe photométable avec le picrate alcalin.  
Un dosage cinétique permet de s'affranchir des interférences.

### Prélèvement :

Prélèvement d'urine ou de sang veineux avec ou sans anticoagulant.

**Technique** : il est conseillé de réaliser ce dosage en commençant par le blanc puis en traitant les tubes les uns après les autres (dosage cinétique). Un étalon de 100 µmol/l est utilisé.

|                      | SÉRUM  | URINE | ÉTALON | BLANC |
|----------------------|--------|-------|--------|-------|
| Sérum ou étalon      | 100 µl |       | 100 µl |       |
| Urine diluée au 1/10 |        | 10 µl |        |       |
| Eau distillée        |        | 90 µl |        | 1 ml  |
| Réactif              | 1 ml   | 1ml   | 1ml    |       |

Mélanger les tubes, déclencher le chronomètre pour chaque tube au moment d'ajouter le réactif.

- Photométrer à 490 nm à t = 20 secondes, puis à t = 80 secondes. Le zéro est fait sur le blanc.
- Calcul de la concentration, C étant la concentration de l'étalon :  
SÉRUM : [(différence absorbance patient) / (différence absorbance étalon)] X C  
URINE : [(différence absorbance patient) / (différence absorbance étalon)] X C X 100
- Les mesures sont linéaires de 0 à 1000 µmol / l.

### Réactifs :

Réactif de coloration : dissoudre dans 500 ml d'eau distillée :

- 1 gramme d'acide picrique

Réactif alcalin : attention, réactif très irritant pour la peau et les yeux, utiliser masque et gants. Dissoudre dans 500 ml d'eau distillée :

- 8 grammes de soude
- 9.5 grammes de phosphate de sodium

Ces deux réactifs se conservent à température ambiante pendant 6 mois.

Le réactif final est obtenu en mélangeant à partie égale la solution d'acide picrique et celle de soude.

### Notes :

- On peut avantageusement utiliser une urine dosée puis ajustée à 100 µmol/l pour se fabriquer son étalon. On l'aliquotera ensuite en capsules de 200 µl que l'on congèlera.
- Un taux de bilirubine supérieur à 42 µmol/l abaisse la concentration en créatinine de 10 µmol/l.

### Fiche technique :

| CREATININE          | Dosage | Cond  | Prix   | Revend. | Référence | Temps de manipulation    | 6      | mn |
|---------------------|--------|-------|--------|---------|-----------|--------------------------|--------|----|
|                     |        |       |        |         |           | Temps d'incubation       | 4      | mn |
| Acide picrique      | solide | 250g  | 298 F  | Fisher  | A4713958  | Frais d'eau distillée    | 0.02 F |    |
| Hydroxyde de sodium | solide | 1 Kg  | 138 F  | Fisher  | A4321194  | Frais de chauffage       | - F    |    |
| Phosphate de sodium | solide | 250g  | 80 F   | Fisher  | A4897508  | Consommables + étalon    | 0.20 F |    |
|                     |        | TOTAL | 516 F  |         |           | Total frais annexes      | 0.22 F |    |
|                     |        | pour  | 26 000 | tests   |           | Amortissement photomètre | 1.00 F |    |

|                          |        |      |        |          |  |                          |        |  |
|--------------------------|--------|------|--------|----------|--|--------------------------|--------|--|
|                          |        | soit | 17 500 | patients |  | Coût en réactif par test | 0.03 F |  |
| Coût au test par patient | 0.03 F |      |        |          |  | Forfait technicien       | 0.50 F |  |
| Poids du kit             | 1,5 Kg |      |        |          |  | Total général            | 1.75 F |  |

## DOSAGE DU GLUCOSE SÉRIQUE, CÉPHALORACHIDIEN ET URINAIRE

Il est à noter que la méthode à l'orthotoluidine utilise des réactifs toxiques et carcinogènes. De plus cette méthode est relativement chère.

Certains kits à la glucose oxydase (bioMérieux, Sigma, Biotrol...) sont moins chers, plus précis et à péremption longue. Lorsque l'on a accès à ces distributeurs, l'utilisation de ces kits est conseillée.

### Principe :

En milieu acétique et en présence de thiourée, le glucose forme avec l'Orthotoluidine un complexe vert photométable.

### Matériel :

Pour le dosage : 5 tubes en verre de 5 ml, bleu et butagaz, casserole.

Pour l'étalon de glucose à : 1 petit flacon en verre brun de 100 ml.

### Prélèvement :

Le dosage peut se faire sur tous les milieux : sérum, plasma, urine, LCR. Lors de dosage sanguins, on conseille le prélèvement sur tube sec.

### Technique :

Les spécimens peuvent être du sérum, de l'urine (confirmation du résultat d'une bandelette urinaire ou du liquide céphalo-rachidien). Lorsque l'on dose une glycorachie, il est conseillé de doser la glycémie en parallèle.

Préparer tout d'abord un petit bain marie bouillant. Diluer ensuite l'étalon au 1/5 en mélangeant 50 ml d'étalon à 10g/l avec 200 ml d'eau distillée.

|  | GAMME D'ÉTALONNAGE |          |       |       |       |
|--|--------------------|----------|-------|-------|-------|
|  | BLANC              | SPÉCIMEN | 1 g/l | 2 g/l | 4 g/l |
| Spécimen ou étalon 10g/l   |                    | 30 µl    |       |       | 12 µl |
| Etalon 2 g/l   |                    |          | 15 µl | 30 µl |       |
| NaCl 0.9%  | 30 µl              |          | 15 µl |       | 18 µl |
| réactif orthotoluidine   | 3ml                | 3ml      | 3ml   | 3ml   | 3ml   |
| Boucher, mélanger et porter exactement 8 minutes au bain-marie bouillant. Refroidir à l'eau 5 minutes. |                    |          |       |       |       |

- Photométrer à 630 nm en faisant le zéro sur le blanc. La coloration verte obtenue est stable 1 heure.
- Construire la droite d'étalonnage de type : concentration = f (absorbance)
- Reporter les absorbances obtenues pour les tubes patients et lire les concentrations.
- Domaine de mesure : 0.2 - 5 g/l. Diluer au quart avec du sérum physiologique si > 5 g/l.
- On considère la gamme d'étalonnage stable une vingtaine de jours, on passera éventuellement le point 2 g/l comme contrôle lors de dosages répétés pendant ces 20 jours.

### Réactifs :

Solution d'orthotoluidine : Réactifs corrosifs : utiliser gants et masque.

- Thiourée pure : 0.15 gramme
- Acide acétique pur : 94 ml
- Orthotoluidine pure : 6 ml.

Dissoudre la thiourée dans l'acide acétique tiède (bain-marie) puis refroidir. Ajouter l'orthotoluidine. Le réactif se conserve 2 mois en petits flacons bruns bouchés placés au réfrigérateur.

Étalon de glucose à 10 g/l : dissoudre 1 gramme de glucose pur anhydre exactement pesé et le dissoudre dans 100 ml (mesurés à la fiole jaugée) d'une solution aqueuse saturée d'acide benzoïque. Conservation indéfinie.

**Valeurs normales :**

- Glycémie : 0.8 - 1.2 g/l.
- Glycorachie : les 2/3 de la glycémie au même moment soit 0.55 - 0.8 g/l pour une glycémie normale.
- Glycosurie : 0 g/l.

**Fiche technique :**

|   |         |           |         |          |           |                          |        |    |
|---|---------|-----------|---------|----------|-----------|--------------------------|--------|----|
| GLUCOSE                                 | Dosage  | Cond      | Prix    | Revend.  | Référence | Temps de manipulation    | 7      | mn |
|   |         |           |         |          |           | Temps d'incubation       | 8      | mn |
| Orthotoluidine                          | pure    | 500ml     | 220 F   | Sigma    | 635-6     | Frais d'eau distillée    | 0.05 F |    |
| Acide acétique                          | 99%     | 8 litres  | 742 F   | Fisher   | A4701901  | Frais de chauffage       | 0.30 F |    |
| Thiourée pure                           | solide  | 100g      | 45 F    | Sigma    | T7875     | Consommables + étalon    | 0.10 F |    |
|   |         | TOTAL     | 1 007 F |          |           | Total frais annexes      | 0.45 F |    |
|   |         | pour      | 2 800   | tests    |           | Amortissement photomètre | 1.00 F |    |
|   |         | soit      | 1 800   | patients |           | Coût en réactif par test | 0.56 F |    |
| Coût au test par patient                | 0.56 F  |           |         |          |           | Forfait technicien       | 0.50 F |    |
| Poids du kit                            | 8.7 Kg2 |           |         |          |           | Total général            | 2.51 F |    |
| Étalon de glucose : conservation à vie. |         |           |         |          |           |                          |        |    |
| Acide benzoïque                         | solide  | 100g      | 70 F    | Sigma    | B7521     |                          |        |    |
| Glucose pur anhydre                     | solide  | 500g      | 81 F    | Sigma    | G5767     |                          |        |    |
|   |         | Total ét. | 151 F   |          |           |                          |        |    |

**DOSAGE DES PROTÉINES PLASMATIQUES TOTALES**

Le dosage des protéines plasmatiques peut être effectué de deux manières. La méthode réfractométrique a notre préférence : elle est peu chère (presque "gratuite"), plus rapide et n'utilise pas de réactifs corrosifs. Cependant, dans les valeurs extrêmes (< à 45 g/l ou > 80 g/l), il est conseillé de contrôler la mesure par une mesure photométrique.

**1- METHODE REFRACTOMETRIQUE :**

A l'aide d'un petit réfractomètre à main mesurant les protéines totales ainsi que la densité urinaire. Se reporter à l'utilisation du réfractomètre ainsi qu'au mode d'emploi de votre réfractomètre. Il faut cependant disposer d'un appareil de qualité, permettant la correction automatique des valeurs en fonction de la température (surtout lorsque l'on manipule dans les pays tropicaux).

**2- METHODE PHOTOMETRIQUE / réaction de type biuret :**

**Principe :**

En ajoutant dans des conditions déterminées du sulfate de cuivre et de la soude à une solution de protéines, on obtient une coloration violette photométable.

**Matériel :**

6 tubes en verre de 5 ml, réactifs, photomètre.

**Prélèvement :**

Prélèvement de sang veineux sans anticoagulant.

**Technique :**

On partira d'un flacon d'albumine à 20 % qui servira d'étalon (facile à trouver car utilisée en clinique). On effectuera une dilution au 1/20 dans du NaCl 0.9% (50 µl albumine + 950 µl NaCl).

Le sérum est aussi dilué au 1/20 dans du NaCl 0.9% (50 µl sérum + 950 µl NaCl).

Pour éliminer l'interférence d'autres substances biuret positive, un blanc sérum (facultatif mais fortement conseillé) peut être effectué. Il est conseillé de commencer le dosage par la réalisation de ce blanc sérum.

|   |       |             |        | GAMME D'ÉTALONNAGE |        |         |
|---|-------|-------------|--------|--------------------|--------|---------|
|   | Blanc | Blanc sérum | Dosage | 50 g/l             | 75 g/l | 100 g/l |
| Sérum dilué au 1/20   |       | 200 µl      | 200 µl |                    |        |         |
| Etalon dilué au 1/20  |       |             |        | 50 µl              | 75 µl  | 100 µl  |
| NaCl 0.9 %  | 1 ml  |             |        | 150 µl             | 125 µl | 100 µl  |
| NaCl 36%  |       | 40 µl       |        |                    |        |         |
| Acide acétique 1 %  |       | 40 µl       |        |                    |        |         |
| Mélanger le tube blanc sérum, le passer au bain-marie bouillant pendant 15 minutes, centrifuger puis récupérer 200 ml du surnageant pour continuer le dosage. |       |             |        |                    |        |         |
| Biuret  | 1ml   | 1ml         | 1ml    | 1ml                | 1ml    | 1ml     |
| Mélanger tous les tubes et les laisser à température ambiante pendant 30 minutes.   |       |             |        |                    |        |         |

Photométrer à 540 nm en faisant le zéro sur le blanc. La coloration violette obtenue est stable plusieurs heures. Construire la droite d'étalonnage de type : concentration = f (absorbance)

**Calcul des Absorbances :**

Sans utiliser le blanc sérum : l'absorbance finale est celle lue pour le tube.

En utilisant le blanc sérum : L'absorbance est égale à : (Absorbance dosage - Absorbance blanc sérum)

Reporter les absorbances obtenues et lire les concentrations.

Domaine de mesure : 40 - 100 g/l.

On considère la gamme d'étalonnage stable une vingtaine de jours, on passera éventuellement le point 75 g/l comme contrôle lors de dosages répétés pendant ces 20 jours.

**Réactifs :** Réactifs corrosifs : utiliser gants et masque.

Soude décarbonatée : mélanger 35 grammes de soude pure à 35 ml d'eau.

Réactif du biuret : Il faut tout d'abord préparer le flacon dans lequel on conservera le réactif : prendre un flacon brun de 250 ml fermant hermétiquement et y déposer un morceau de paraffine d'une vingtaine de grammes, chauffer le flacon sur le bec Bunsen à l'aide d'une pince et faire fondre toute la paraffine en recouvrant tout l'intérieur du flacon de paraffine fondue. Laisser refroidir et préparer ensuite le réactif :

- 0.3 gramme de sulfate de cuivre.
- 1.2 grammes de tartrate double de sodium et de potassium.
- 6 grammes de soude décarbonatée.
- 0.2 gramme d'iodure de potassium.
- De l'eau distillée en quantité suffisante pour une quantité totale de 200 ml.

Acide acétique à 1% : mélanger 1 ml d'acide acétique et 99 ml d'eau distillée.

**Fiche technique :**

|                     |        |      |       |         |           |                       |        |    |
|---------------------|--------|------|-------|---------|-----------|-----------------------|--------|----|
| PROTEINES           | Dosage | Cond | Prix  | Revend. | Référence | Temps de manipulation | 12     | mn |
|                     |        |      |       |         |           | Temps d'incubation    | 30     | mn |
| Tartrate de Na et K | solide | 500g | 165 F | Fisher  | A4321081  | Frais d'eau distillée | 0.02 F |    |

|                          |        |        |       |          |          |                          |        |  |
|--------------------------|--------|--------|-------|----------|----------|--------------------------|--------|--|
| Hydroxyde de sodium      | solide | 1 Kg   | 138 F | Fisher   | A4321194 | Frais de chauffage       | 0.30 F |  |
| Sulfate de cuivre        | solide | 500g   | 182 F | Fisher   | A4320272 | Consommables + étalon    | 0.20 F |  |
| Acide acétique           | 99%    | 1litre | 109 F | Fisher   | A4701901 | Total frais annexes      | 0.52 F |  |
| Iodure de potassium      | solide | 250    | 231 F | Fisher   | A4873808 | Amortissement photomètre | 1.00 F |  |
|                          |        | TOTAL  | 825 F |          |          | Coût en Rf par test      | 0.36 F |  |
|                          |        | pour   | 3 500 | tests    |          | Forfait technicien       | 0.50 F |  |
|                          |        | soit   | 2 300 | patients |          | Total général            | 2.38 F |  |
| Coût au test par patient | 0.36 F |        |       |          |          |                          |        |  |
| Poids du kit             | 1,8 Kg |        |       |          |          |                          |        |  |

## DOSAGE DES PROTÉINES URINAIRES ET CÉPHALORACHIDIENNES

Nous décrivons ici une méthode simple, fiable, sensible et répétable, peu chère et ne nécessitant pas de photomètre : la méthode de coloration à l'amidoschwartz.

### Principe :

On dépose sur un papier buvard une petite quantité de liquide. A près séchage, les protéines présentes sont colorées par une solution d'amidoschwartz. Les buvards sont ensuite décolorés par une solution de méthanol acétique. La coloration est comparée à une gamme d'étalonnage sur papier.

### Matériel :

Des feuilles de papier buvard de 5 cm X 20 cm. Leur grain doit être fin et ils doivent être suffisamment épais. 5 bacs à coloration, 5 flacons bruns de 250 ml, une pince en plastique, réactifs.

### Prélèvement :

Réaliser un prélèvement d'urine ou une ponction lombaire. Dans un cas comme dans l'autre, seuls 20 ml seront nécessaires. On peut aussi réaliser un prélèvement d'urine de 24 heures, permettant d'exprimer la protéinurie en mg / jour.

### Technique:

Déposer 20 µl de spécimen (urine ou LCR) à la pipette automatique sur le buvard. On peut faire 5 taches sur un buvard de 20 cm de long. Le découper si on ne dose qu'un seul patient.

Identifier le prélèvement **au crayon de papier** sur le buvard.

Laisser sécher le buvard au soleil pendant 30 minutes.

Placer le buvard dans un bac à coloration, le couvrir avec le réactif de coloration. Laisser agir 5 minutes en agitant le bac de temps en temps. Remettre le colorant dans son flacon.

Sortir le buvard avec la pince, bien l'égoutter puis le tremper dans un premier bain de décoloration pendant 5 minutes en agitant de temps en temps.

Sortir le buvard avec la pince, bien l'égoutter puis le tremper dans un deuxième bain de décoloration pendant 5 minutes en agitant de temps en temps. On décolore dans 4 bains en tout.

Le buvard est alors complètement décoloré à l'exception des taches de protéines plus ou moins bleues suivant la concentration.

Sécher le buvard au soleil.

Comparer la coloration obtenue à la gamme de référence.

Note : les bains de décoloration peuvent servir plusieurs fois, on les replacera dans des flacons bruns en jetant de temps en temps le premier bain que l'on remplacera par le deuxième et ainsi de suite.

### Réalisation de la gamme de comparaison (stable un an):

On partira d'un flacon d'albumine à 20 % (facile à trouver car utilisée en clinique).

On réalisera une dilution au 1 / 50 de cette albumine en mélangeant 200 µl d'albumine à 9.8 ml de sérum physiologique (NaCl à 0.9%) On obtient donc une solution à 4 g/l.

Une partie de cette solution à 4 g/l est diluée au 1 / 4 pour obtenir une dilution totale au 1/ 200 : 1 ml de solution à 4 g/l dans 3 ml de sérum physiologique.

On possède donc une solution à 4 g/l et une solution à 1 g/l.

Préparer 25 tubes à hémolyse. Les numéroter de 1 à 25. Préparer les dilutions comme indiqué ci-dessous. Les volumes sont indiqués en microlitres. Utiliser une pipette automatique de 200 µl précise.

On peut garder le même cône sur la pipette en commençant d'abord par distribuer dans tous les tubes le NaCl puis la solution à 1 g/l et enfin celle à 4 g/l.

| N° | Concentration finale g/l | Buvard N° | Solution à 1 g/l | Solution à 4 g/l | NaCl 0.9% |
|----|--------------------------|-----------|------------------|------------------|-----------|
| 1  | 0                        | 1         | 0                |                  | 200       |
| 2  | 0.02                     | 1         | 4                |                  | 196       |
| 3  | 0.04                     | 1         | 8                |                  | 192       |
| 4  | 0.06                     | 1         | 12               |                  | 188       |
| 5  | 0.08                     | 1         | 16               |                  | 184       |
| 6  | 0.1                      | 2         | 20               |                  | 180       |
| 7  | 0.2                      | 2         | 50               |                  | 200       |
| 8  | 0.3                      | 2         | 60               |                  | 140       |
| 9  | 0.4                      | 2         | 100              |                  | 150       |
| 10 | 0.5                      | 2         | 100              |                  | 100       |
| 11 | 0.6                      | 3         | 150              |                  | 100       |
| 12 | 0.7                      | 3         | 140              |                  | 60        |
| 13 | 0.8                      | 3         | 200              |                  | 50        |
| 14 | 0.9                      | 3         | 180              |                  | 20        |
| 15 | 1                        | 3         | 200              |                  | 0         |
| 16 | 1.1                      | 4         |                  | 55               | 145       |
| 17 | 1.2                      | 4         |                  | 60               | 140       |
| 18 | 1.3                      | 4         |                  | 65               | 135       |
| 19 | 1.4                      | 4         |                  | 70               | 130       |
| 20 | 1.5                      | 4         |                  | 75               | 125       |
| 21 | 1.8                      | 5         |                  | 90               | 110       |
| 22 | 2                        | 5         |                  | 100              | 100       |
| 23 | 2.5                      | 5         |                  | 125              | 75        |
| 24 | 3                        | 5         |                  | 150              | 50        |
| 25 | 4                        | 5         |                  | 200              | 0         |

Bien mélanger chaque tube.

Préparer 5 buvards 5 X 20 cm puis déposer 20 µl de chaque dilution à raison de 5 taches par buvard.

Noter les concentrations sous chaque tache au **crayon de papier**.

Traiter les buvards comme l'échantillon. Bien décolorer et sécher. Agrafer les 5 bandes sur une feuille A4 standard, noter la date puis la glisser dans une pochette en plastique transparent. Scotcher l'ouverture pour la rendre hermétique après avoir chassé l'air résiduel. La gamme de comparaison est stable un an si elle est conservée dans sa feuille plastique scotchée et à l'abri de la lumière.

**Valeurs normales :**

protéinurie : &lt; 0.5 mg/l ou &lt; 0.1 g/24h

protéinorachie : entre 0.2 et 0.4 g/l.

**Réactifs :**

Utiliser gants et masque.

Réactif de coloration : mélanger dans un flacon brun de 250 ml :

2.5 grammes d'amidoschwartz 10 B

225 ml de méthanol pur

25 ml d'acide acétique pur

Bien agiter le mélange puis le filtrer.

Réactif de décoloration : mélanger dans un flacon brun de 250 ml :

175 ml de méthanol pur

60 ml d'eau distillée

15 ml d'acide acétique pur.

**Fiche technique :**

|                          |        |          |        |          |           |                          |        |    |
|--------------------------|--------|----------|--------|----------|-----------|--------------------------|--------|----|
| PROTEINES URINE / LCR    | Dosage | Cond     | Prix   | Revend.  | Référence | Temps de manipulation    | 2      | mn |
|                          |        |          |        |          |           | Temps d'incubation       | 60     | mn |
| Amidoschwartz 10B        | solide | 25g      | 106 F  | Sigma    | N3005     | Frais d'eau distillée    | 0.02 F |    |
| Méthanol                 | 99%    | 5 litres | 251 F  | Fisher   | A4320921  | Frais de chauffage       | - F    |    |
| Buvards                  | papier | 1Kg      | 200 F  |          |           | Consommables + étalon    | 0.10 F |    |
| Acide acétique           | 99%    | 1 litre  | 109 F  | Fisher   | A4701901  | Total frais annexes      | 0.12 F |    |
|                          |        | TOTAL    | 666 F  |          |           | Amortissement photomètre | - F    |    |
|                          |        | pour     | 10 000 | tests    |           | Coût en réactif par test | 0.07 F |    |
|                          |        | soit     | 10 000 | patients |           | Forfait technicien       | 0.50 F |    |
| Coût au test par patient | 0.07 F |          |        |          |           | Total général            | 0.69 F |    |
| Poids du kit             | 7.1 Kg |          |        |          |           |                          |        |    |

**DOSAGE DE L'URÉE PLASMATIQUE ET URINAIRE****Principe :**

L'urée urinaire, plasmatique ou sérique forme avec la diacétylmonoxime un complexe rose stable photométable.

**Matériel :**

6 tubes en verre de 5 ml. réactifs, photomètre, bleuet butagaz, casserole, portoir à tubes en métal.

**Prélèvement :**

Prélèvement d'urine ou de sang veineux avec ou sans anticoagulant.

**Technique :**

On part d'un étalon d'urée de 50 mmol/l

Préparer tout d'abord un petit bain marie bouillant.

|                         | SPECIMENS |        |       | GAMME D'ETALONNAGE |           |           |
|-------------------------|-----------|--------|-------|--------------------|-----------|-----------|
|                         | BLANC     | SERUM  | URINE | 5 mmol/l           | 25 mmol/l | 50 mmol/l |
| Sérum, plasma ou étalon |           | 100 µl |       | 10 µl              | 50 µl     | 100 µl    |
| urine diluée au 1/10    |           |        | 50 µl |                    |           |           |

|   |        |       |       |       |       |       |
|---|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| NaCl 0.9%   | 100 µl |       | 50 µl | 90 µl | 50 µl |       |
| réactif de travail  | 2.5ml  | 2.5ml | 2.5ml | 2.5ml | 2.5ml | 2.5ml |
| porter au bain-marie bouillant pendant 8 minutes puis refroidir sous un courant d'eau |        |       |       |       |       |       |

- Photomètre à 520 nm en faisant le zéro sur le blanc. La coloration rose obtenue est stable 2 heures.
- Construire la droite d'étalonnage de type : concentration = f (absorbance)
- Reporter les absorbances obtenues pour les tubes patients et lire les concentrations.
- Domaine de mesure : 0 -60 mmol/l. Diluer au quart avec du sérum physiologique si > 60 mmol/l.
- On considère la gamme d'étalonnage stable une dizaine de jours, on passera éventuellement le point 25 mmol/l comme contrôle lors de dosages répétés pendant ces 10 jours.
- Note : on peut avantageusement utiliser une urine dosée puis ajustée à 50 mmol/l pour se fabriquer son étalon. On l'aliquotera ensuite en capsules de 250 µl que l'on congèlera.

**Réactifs :** Attention : les réactifs sont corrosifs : utiliser gants et masque.

Réactif 1 : dissoudre 4.5 grammes de diacétylmonoxime dans 450 ml d'eau distillée

Réactif 2 : dissoudre 0.45 gramme de thiosemicarbazide dans 250 ml d'eau distillée

Réactif 3 : dans un flacon d'un litre, mélanger successivement :

- 150 ml d'acide sulfurique à 95 %
- 150 ml d'acide phosphorique à 85 %
- 1.8 gramme de sulfate de fer III ammonium
- 150 ml d'eau distillée.

Les réactifs 1, 2 et 3 sont stables 2 ans en flacon brun bouché conservé à l'abri de la lumière.

Réactif de travail : à faire juste avant le dosage et à jeter ensuite.

- Mélanger 2 volumes de R1, 0.5 volume de R2 et 2 volumes de R3. Soit pour 18 ml de solution de travail : 8 ml de R1; 2ml de R2 et 8 ml de R3.

#### Fiche technique :

|                            |        |            |         |          |           |                          |        |    |
|----------------------------|--------|------------|---------|----------|-----------|--------------------------|--------|----|
| UREE                       | Dosage | Cond       | Prix    | Revend.  | Référence | Temps de manipulation    | 7      | mn |
|                            |        |            |         |          |           | Temps d'incubation       | 8      | mn |
| Diacétylmonoxime           | solide | 50g        | 268 F   | Fisher   | A4782705  | Frais d'eau distillée    | 0.04 F |    |
| Thiosemicarbazide          | solide | 25g        | 260 F   | Fisher   | A4911605  | Frais de chauffage       | 0.30 F |    |
| Acide sulfurique           | 95%    | 2.5 litres | 207 F   | Fisher   | A4715852  | Consommables + étalon    | 0.20 F |    |
| Sulfate d'ammonium fer III | solide | 500 g      | 207 F   | Fisher   | A4320085  | Total frais annexes      | 0.54 F |    |
| Acide phosphorique         | 85%    | 2 litres   | 234 F   | Fisher   | A4713501  | Amortissement photomètre | 1.00 F |    |
|                            |        | TOTAL      | 1 176 F |          |           | Coût en réactif par test | 0.39 F |    |
|                            |        | pour       | 4 000   | tests    |           | Forfait technicien       | 0.50 F |    |
|                            |        | soit       | 3 000   | patients |           | Total général            | 2.43 F |    |
| Coût au test par patient   | 0.39 F |            |         |          |           |                          |        |    |
| Poids du kit               | 5.1 Kg |            |         |          |           |                          |        |    |

#### ESTIMATION DE LA CRP SÉRIQUE

##### Principe :

La protéine C réactive est en quelque sorte l'éboueur du sérum, et a tendance à se lier aux particules de phosphatidyl choline en milieu hypercalcique.

##### Matériel :

Lames propres et dégraissées, flambées puis refroidies juste avant utilisation, un petit flacon d'Intralipid ou

de lipoven (nutrition parentérale lipidique), un flacon de chlorure de calcium standard pour coagulation (0.025 M), agitateurs en bois (ou des petites tiges de mil)

Attention : Le flacon d'Intralipid ne se conserve pas bien à l'air libre, pour en prélever, piquer avec une seringue stérile à travers le capuchon en caoutchouc (préalablement désinfecté) pour retirer quelques millilitres (suffisant pour 100 tests). Le flacon d'Intralipid se conserve bien si on enlève pas le bouchon. Si il apparaît un trouble ou un précipité, il faut jeter le flacon.

#### Technique :

Préparer le réactif extemporanément : mélanger 100 µl d'intralipid ou de lipoven avec 0.6 ml de CaCl<sub>2</sub>. Bien mélanger par retournement. Pratiquer un prélèvement de sang veineux recueilli sans coagulant. Centrifuger puis recueillir le sérum. Sur une lame ou mieux une petite plaque à agglutination (de préférence à fond noir), déposer 50 µl de sérum et 50 µl du réactif. Mélanger à l'aide du bâtonnet. Le réactif est valable 2 jours.

#### Interprétation :

Les particules d'Intralipid agglutinent en présence de CRP.

Un seuil d'une dizaine à une quinzaine de mg/l de CRP est nécessaire pour l'apparition de l'agglutination. Il est conseillé de faire quelques tests en milieu hospitalier en parallèle à l'agglutination afin de définir ses propres seuils. On peut aussi récupérer du sérum d'un patient ayant une CRP élevée et l'aliqoter en dans des petits tubes Eppendorf que l'on congèlera, en s'en servant de contrôle positif par la suite.

Une méthode semi-quantitative peut être effectuée en cas d'agglutination positive en diluant l'échantillon de 2 en 2 dans du sérum physiologique. Il est encore une fois conseillé de pratiquer au début l'analyse en parallèle à des dosages immunologiques afin d'affiner la méthode.

On conseille de rendre le résultat en cotation par croix, signifiant le nombre de dilutions de 2 en 2 qui agglutinent. Par exemple : "+" signifiera que seul le sérum pur agglutine, "+++" signifiera que l'agglutination est observée pour un sérum dilué au 1/4 et "+++++" qu'il agglutine au 1/16.

Il y a inflammation aiguë à partir de "++" et infection à partir de "++++".

#### Réactifs :

CaCl<sub>2</sub> 0.025 M : mélanger 1 gramme de CaCl<sub>2</sub> avec 270 ml d'eau distillée.

#### Fiche technique :

|                           |          |       |        |          |           |                          |        |    |
|---------------------------|----------|-------|--------|----------|-----------|--------------------------|--------|----|
| CRP                       | Dosage   | Cond  | Prix   | Revend.  | Référence | Temps de manipulation    | 3      | mn |
|                           |          |       |        |          |           | Temps d'incubation       | 2      | mn |
| Lipoven ou intralipid     | standard | 250ml | 11 F   | pharm.   |           | Frais d'eau distillée    | 0.02 F |    |
| CaCl <sub>2</sub> 0.025 M | 0.025 M  | 500g  | 90 F   | Fisher   | A4320184  | Frais de chauffage       | - F    |    |
|                           |          | TOTAL | 101 F  |          |           | Consommables + étalon    | 0.10 F |    |
|                           |          | pour  | 10 000 | tests    |           | Total frais annexes      | 0.12 F |    |
|                           |          | soit  | 8 000  | patients |           | Amortissement photomètre | - F    |    |
| Coût au test par patient  | 0.01 F   |       |        |          |           | Coût en réactif par test | 0.01 F |    |
| Poids du kit              | 0.8 Kg   |       |        |          |           | Forfait technicien       | 0.50 F |    |
|                           |          |       |        |          |           | Total général            | 0.63 F |    |

#### ESTIMATION GLOBALE DE L'OSMOLARITÉ

Ce test ne prend en compte que les ions. L'urée, les protéines et le glucose ne sont pas mesurés par cette méthode

#### Principe :

La résistivité du plasma ou de l'urine est inversement proportionnelle à sa concentration ionique, elle décroît lorsque la concentration augmente. On mesure la conductimétrie du plasma qui est inversement proportionnelle à la résistivité. En mesurant en parallèle la concentration en protéines, on affine la mesure.

#### Matériel :

Un conductimètre à piles avec correction automatique en fonction de la température (important s'il fait très

chaud), de préférence étanche, lunette réfractométrique (protéines), godets, eau distillée très pure, NaCl 0.9%.

**Prélèvement :**

Pratiquer un prélèvement de sang veineux, recueilli sous héparine ou sans anticoagulant. Centrifuger puis décanter rapidement afin d'éviter les échanges entre plasma et cellules.

**Mode opératoire :**

Préparer 3 godets neufs :

- Un avec de l'eau distillée très pure
- Un avec du NaCl 0.9%
- Un avec le plasma, le sérum ou l'urine.

Calibrer l'appareil avec les deux premiers godets puis mesurer le troisième. Les résultats sont généralement donnés en mS/cm (milliSiemens, le Siemens est le nouveau du mho, l'inverse de l'ohm)

**Résultats :**

- Les valeurs normales de la conductance C sont comprises entre 13.6 et 14.1 mS/cm.
- Il y a hypertonie / déshydratation pour des valeurs inférieures à 13.5 mS/cm
- Il y a hypotonie / hyperhydratation pour des valeurs supérieures à 14.2 mS/cm.

**Affinage de la méthode :**

Lorsque l'on dispose d'une lunette réfractométrique, on peut mesurer en parallèle la protéinémie P. On peut ensuite utiliser la formule suivante pour estimer l'osmolarité :

$$\text{Osm} = \frac{1800 \times C}{100 - (0.25 \times P)}$$

- Osmolarité en meq/l
- Conductance en mS/cm
- Protéines en g/l

Les valeurs de l'osmolarité plasmatique sont comprises entre 295 et 305 meq/l.

**DÉTERMINATION DE LA CLAIRANCE DE LA CRÉATININE**

**Utilité :**

La clairance d'une substance éliminée par le rein est le volume de plasma épuré totalement de cette substance dans l'unité de temps. Plus une clairance est élevée, plus le pouvoir d'épuration pour cette substance est élevé. La créatinine étant éliminée uniquement par filtration glomérulaire, la mesure de sa clairance permet d'évaluer la vitesse de filtration glomérulaire. C'est donc un instrument utile pour apprécier les fonctions de filtration rénales.

**Prélèvements et technique:**

Pratiquer le matin un prélèvement de sang veineux recueilli sans anticoagulant et un prélèvement d'urines de 24 heures. (les urines de ce matin-là seront donc jetées). Le volume urinaire de la journée en ml est noté (J).

Centrifuger le sang et 5 ml d'urine puis effectuer un dosage de la créatinine dans le sérum et l'urine décanter.

On obtient : U = concentration urinaire en µmol/l (attention, on exprime généralement la créatinine urinaire en mmol/l, il faut donc la multiplier par 1000) et P = concentration sérique en µmol/l.

**Calcul de la clairance :**

Calcul du débit urinaire V en ml/mn : **V = J/1440** (1440 représente le nombre de minutes en 24 heures)

Calcul de la clairance C :  $C = (U/P) \times V$   
On obtient donc une clairance en ml/mn.

**Valeurs normales :**

Homme : 97-137 ml/min. Femme : 88-138 ml/min.

Une valeur inférieure à 90 peut être un des premiers signes biologiques d'une insuffisance rénale débutante. On peut classer les insuffisances rénales en débutantes (40 ml/min), avancées (40 à 10 ml/min) et terminales (en dessous de 10 ml/min). Cependant, lorsque la filtration glomérulaire est basse, la clairance de la créatinine la surestime légèrement

La clairance de la créatinine diminue physiologiquement de 6,5 ml/min par décade au delà de 30 ans.

**Notes :**

On peut affiner la clairance de deux manières :

1- Proposer au malade un régime sans viande, café ou thé pendant la période de recueil de l'urine.

2- Ajuster la clairance par rapport à la surface corporelle A en sachant que H est la hauteur du malade en centimètres et W est son poids en Kilogrammes.

$$A = H^{0.725} \times W^{0.425} \times 72$$

On obtient ensuite la clairance ajustée Ca :

$$Ca = C \times (17300/A)$$

17.3 représente la surface corporelle moyenne de l'adulte en m<sup>2</sup> (soit 17300 cm<sup>2</sup>).

Diminution de 6,5 ml/min par décade au delà de 30 ans.

## MESURE DE LA DENSITÉ URINAIRE

La densité urinaire ou poids spécifique urinaire (Spécifique Gravity ou SG en anglais) donne une indication sur la concentration de l'urine et donc indirectement sur la diurèse. Elle permet donc de pondérer un résultat urinaire (numération des leucocytes ou hématies, protéinurie, glycosurie, nitriturie) par rapport à la concentration de l'urine.

**Mesure de la densité urinaire :**

Elle peut se faire de trois manières :

- Grâce à une lunette réfractométrique (pas de réactifs ni de consommables)
- Grâce à un densitomètre (moins précis et relativement cher)
- Grâce à des bandelettes urinaires (simple et pratique mais plus cher que la lunette)

Nous préconisons l'utilisation d'un réfractomètre compensant automatiquement la température de manipulation (la densité diminue de 0.001 lorsque la température extérieure augmente de 3 °C).

Attention, en cas de pH urinaire supérieur à 6.5, la densité est sous-évaluée : rajouter 0.005 par unité pH supérieure à 6.5.

**Valeurs normales :**

- Une urine normale possède une densité comprise entre 1.010 et 1.025
- Densité inférieure à 1.010 : urine peu concentrée.
- Densité supérieure à 1.025 : urine très concentrée.

L'urine du matin est habituellement la plus concentrée (au moins 1.020)

**Exemple :**

Imaginons 3 urines dans lesquelles on trouve environ 0.1-0.15 g/l de protéines à l'amidoschwartz ou le résultat "traces" à la bandelette. Elles ont donc toutes les trois la même concentration. On mesure la densité urinaire pour ces 3 urines. Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

| Urine                 | 1                    | 2                | 3             |
|-----------------------|----------------------|------------------|---------------|
| Densité urinaire      | 1.030 :<br>concentré | 1.015 :<br>moyen | 1.005 : dilué |
| diurèse/24 h. estimée | 500 ml               | 1000 ml          | 2000 ml       |
| Protéinurie de 24 h   | 75 mg/j              | 150 mg/j         | 300 mg/j      |
| Conclusion            | physiologique        | limite           | pathologique  |

On voit donc la nécessité de pondérer beaucoup de résultats urinaire (spécialement ceux obtenus pas des bandelettes sur une miction simple) à la densité urinaire.  
L'idéal reste les prélèvements d'urine de 24 heures.

## MESURE DU pH

La mesure du pH est utile pour :

- mesurer le pH d'une solution réactif
- mesurer le pH d'un tampon
- mesurer le pH d'un diluant pour coloration
- mesurer le pH urinaire

Dans tous les cas, on recommande l'utilisation d'un petit pHmètre à pile, étanche, précis à une décimale (largement suffisant), et réalisant une autocalibration (pas de problèmes de calibration). Ce genre de pHmètre coûte environ 200 FF

Préparer un échantillon du liquide à analyser dans un godet, plonger le pHmètre dans le godet le temps nécessaire puis lire le résultat. Rincer l'appareil sous l'eau du robinet, puis à l'eau distillée. Sécher avec un linge non peluchant et le remettre aussitôt dans son étui.

Remarque : pour diluer le Giemsa, on recommande une eau à pH compris entre 7.4 et 7.8.

## RECHERCHE DE CORPS CÉTONIQUES DANS L'URINE

### Principe :

L'acétone et l'acide acétyl-acétique peuvent être mis en évidence dans l'urine par une réaction colorée. Les réactifs habituellement liquides sont ici sous forme solide, ce qui permet une meilleure conservation. On peut aussi rechercher les corps cétoniques par bandelette urinaire, mais cette méthode est moins chère.

Attention : cette méthode ne permet pas la mise en évidence de l'acide bêta oxybutyrique, qui est le troisième corps cétonique que l'on peut trouver dans l'urine.

### Matériel :

Réactifs, une pipette pasteur, un carreau blanc, spatule, chronomètre.

### Préparation des réactifs :

Pulvériser finement et mélanger soigneusement :

- 2 grammes de nitroprussiate de sodium anhydre
- 25 grammes de carbonate de sodium
- 75 grammes de sulfate d'ammonium

Conserver dans un flacon brun bouché, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Si les poudres sont bien conservées, elles se conservent plusieurs années.

### Mode opératoire :

Homogénéiser le réactif avec la spatule puis déposer une pointe de spatule de poudre sur un carreau blanc. Ajouter une goutte d'urine avec une pipette Pasteur. Attendre 5 minutes.

### Résultat :

L'apparition d'une couleur violette signe la présence de corps cétoniques.

On peut régulièrement contrôler le réactifs en le testant avec une goutte du mélange suivant :  
10 ml d'eau + quelques gouttes d'acétone

## RECHERCHE DE SELS ET DE PIGMENTS BILIAIRES DANS L'URINE

### SELS BILIAIRES

Les sels ou acides biliaires sont des acides choliques, leur rôle est d'émulsionner les graisses pour les rendre plus solubles et permettre leur absorption. Lors d'un obstacle majeur sur les voies biliaires, il y a élimination de ces sels par l'urine.

#### Mode opératoire :

Pour rechercher leur présence dans l'urine, on jette une pincée de poudre de fleur de soufre à la surface d'une urine contenue dans un verre à pied. En présence de sels biliaires, la fleur de soufre tombe au fond du verre, en absence de sels biliaires, elle reste à la surface.

Il y a présence de ces sels biliaires dans l'urine en cas de cholestase.

### PIGMENTS BILIAIRES

#### Principe :

Les pigments biliaires sont issus du catabolisme normal de l'hémoglobine. On recherche leur présence par la réaction colorée de Grimbert.

#### Matériel :

Réactifs, tube en verre Pyrex de 15 ml minimum, bain-marie bouillant .

#### Préparation des réactifs :

Chlorure de baryum à 10 % : dans un flacon brun de 100 ml, mélanger 10 grammes de chlorure de baryum et 100 ml d'eau distillée.

Alcool chlorhydrique : dans un flacon de 100 ml, mélanger 95 ml d'alcool à 95 ° et 5 ml d'HCl pur.

Eau oxygénée à 10 volumes.

#### Mode opératoire :

Mélanger 5 ml d'urine et 2.5 ml de la solution de chlorure de baryum

Centrifuger à pleine vitesse puis ôter le surnageant.

Délayer le culot dans 2.5 ml d'alcool chlorhydrique

Porter 1 minute au bain-marie bouillant : **ATTENTION AUX PROJECTIONS.**

#### Résultats :

Pas de coloration : absence de pigments biliaires

Coloration bleue-verte : présence de pigments biliaires

Coloration brune : ajouter 2 gouttes d'eau oxygénée puis mettre à nouveau 1 minute au bain-marie bouillant

:

La solution devient verte : présence de pigments biliaires

La solution reste brune : présence de pigments d'origine non biliaire.

## UTILISATION DE BANDETTES URINAIRES

### Généralités

Les bandelettes urinaires permettent une analyse simple, rapide et peu chère de différents paramètres urinaires. Il existe des bandelettes à 1 ou 2 paramètres (généralement pour rechercher la protéinurie et la glycosurie), mais aussi des bandelettes à 5, 7 et même 10 paramètres :

- Glycosurie
- Protéinurie
- Cétonurie
- Bilirubinurie
- Urobilinogénurie
- Nitriturie
- pH urinaire
- Densité urinaire
- Leucocyturie
- Hématurie

Il est à noter que bon nombre de ces analyses peuvent être réalisées de manière traditionnelle et souvent pour un coût bien inférieur au prix d'une bandelette 10 paramètres. Il s'agit de :

- Protéinurie
- Cétonurie
- Urobilinogénurie
- pH urinaire
- Densité urinaire
- Leucocyturie
- Hématurie

Les bandelettes sont toujours conservées dans leur emballage bien bouché, dans un endroit sec et frais. Il ne faut pas les mettre au réfrigérateur ni au soleil. L'endroit idéal est un tiroir à l'ombre.

#### Utilisation de la bandelette :

Réaliser tout d'abord un prélèvement d'urine correct.

On rappelle tout de même l'importance d'utiliser un récipient propre, sec et bien rincé à l'eau claire, ne contenant aucun antiseptique ni désinfectant ni conservateur. L'urine sera recueillie en milieu de jet et l'analyse par bandelette sera réalisée moins d'une heure après le recueil. On peut aussi conserver les urines pendant 24 heures à 4° et à l'abri de la lumière (entourer le récipient bien bouché de papier aluminium ou le placer dans une boîte opaque).

Cependant, pour une mesure valable de la bilirubine et de l'urobilinogène, l'analyse doit être pratiquée immédiatement. De plus, pour une bonne interprétation des nitrites, on conseille d'utiliser les urines du matin, ou de recueillir une urine plus de 4 heures après la précédente.

- Mélanger et homogénéisez les urines avec un petit agitateur en verre
- Sortir la bandelette de son étui sans toucher les zones réactives. Refermer l'étui
- Plonger la bandelette et la retirer immédiatement
- Tapoter la tranche de la bandelette contre le récipient, afin d'éliminer l'urine excédentaire.
- Attendre le temps préconisé par le fabricant (généralement entre 30 secondes et 2-3 minutes)
- Lire en tenant la bandelette près de l'échelle colorimétrique
- Noter les résultats puis jeter la bandelette dans la poubelle à incinérer.

#### Rappel sur les paramètres

| Paramètre          | Seuil moyen                            | Faux négatifs  | Faux positifs   | Commentaires   |
|--------------------|--|--|---|--|
| <b>Glycosurie</b>  | 1 g/l - 5 mmol/l                       | Diurèse ++ donc densité basse<br>Bactéries ++, lire pH<br>Cétonurie ++<br>Aspirine, vit. C, L-dopa | Lavage du récipient avec des oxydants ou des acides. Zyloric  | Confirmer par un dosage sérique du glucose                         |
| <b>Cétonurie</b>   | 0.05-0.1 g/l CC                        | Bactéries ++   | Captopril   |  |
| <b>Hématurie</b>   | 0.3 mg/l Hb<br>10 GR / mm <sup>3</sup> | Urines très concentrées (densité haute)<br>Protéinurie ++<br>Urine non mélangée                    | Menstruations, sondage, leucorrhées. Lavage du récipient avec des oxydants ou des acides                |  |
| <b>Protéinurie</b> | 0.15-0.2 g/l                           | Diurèse ++ (faible densité)<br>Peu d'albumine ou prot. de Bence-Jones                              | Lavage du récipient avec des oxydants ou des acides. Toilette avec des ammoniums ou de la chlorhexidine | La méthode à l'amidoschwartz est plus sensible et plus spécifique. |

|                             |                           |   |  |  |
|-----------------------------|---------------------------|---|--|--|
| <b>Leucocyturie</b>         | 10 GB / mm <sup>3</sup>   | Glycosurie +++<br>Protéinurie +++, Densité ++<br>céphalosporines, tétracyclines,<br>conservateurs                       | Leucorrhées, lavage du récipient<br>avec des oxydants ou des acides<br>(formol ++)           | A interpréter<br>simultanément                                     |
| <b>Nitriturie</b>           | 10 <sup>5</sup> germes/ml | Diurèse ++ (faible densité)<br>Pas de nitrates alimentaires<br>Germe nitrate négatif : strepto, gono et<br>BK<br>Vit. C | Germes du méat urinaire si<br>prélèvement en début de jet. Urine<br>vieillie. Dérivés nitrés |  |
| <b>Bilirubinurie</b>        | 2-4 mg/l                  | Urine laissée à la lumière<br>Vit. C, chlorhexidine dans le récipient.  | Rifampicine  | A interpréter<br>simultanément                                     |
| <b>Urobilinogène</b>        | 1.6-16 µmol/l             | Urine laissée à la lumière<br>Conservateurs   |  |  |
| <b>pH</b>                   | 0.5 unité pH              | Conservateurs acides  | Urine vieillie et donc basique<br>(bactéries ++)   | Bien nettoyer la<br>sonde du pHmètre<br>après usage.               |
| <b>Densité<br/>urinaire</b> | 0.005 unité DU            | pH > 6.5  |  | Aide à<br>l'interprétation de :<br>GB, GR, Glucose,<br>prot., nit. |

**Quelques cas pratiques :** dans tous les cas, l'analyse doit être validée au moins par la mesure de la densité urinaire à laquelle on peut avantageusement ajouter le pH.

Surveillance d'une grossesse :

Recherche d'une infection urinaire : GB, GR, nitrites

Recherche d'une protéinurie

Recherche d'une glycosurie

Surveillance d'un diabétique :

Glycosurie, cétonurie

Recherche d'une infection urinaire : GB, GR, nitrites

Recherche d'une protéinurie

Suspicion d'infection urinaire :

GB, GR, Nitrite et protéines normaux oriente vers un arbre urinaire intact. (nitrite, GB et GR sont normaux tous les 3 dans seulement 2% des infections urinaires).

GB, GR, Nitrite et protéines augmentés oriente vers une infection urinaire.

Suspicion de colique néphrétique :

On observe une hématurie microscopique dans 94% des cas. En cas d'absence d'hématies, on peut donc pratiquement écarter cette présomption.

Suspicion d'insuffisance rénale :

Il est rare d'observer une insuffisance rénale si les paramètres GB, GR et protéine sont négatifs simultanément. De plus, en cas de densité urinaire supérieure à 1.025, la probabilité qu'il existe une insuffisance rénale sévère est faible.

Ceci peut-être très utile avant la prescription de médicaments néphrotoxiques comme les aminosides.

## UTILISATION DU RÉFRACTOMÈTRE

En biochimie clinique, on utilise un réfractomètre pour mesurer :

- Les protéines sériques ou plasmatiques totales, mesure utilisée de plus pour estimer l'osmolarité plasmatique.
- La densité urinaire

### Présentation:

Il existe deux types de réfractomètres cliniques : les réfractomètres simples et ceux compensant automatiquement la température extérieure. Nous conseillons l'utilisation de ces réfractomètres à compensation, particulièrement utiles dans les pays tropicaux. Ils coûtent cependant environ 20% plus cher.

Le réfractomètre se présente comme une petite lunette d'observation. Sur l'une de ses extrémités, un prisme mobile permet, en le relevant, de déposer quelques gouttes de liquide. On referme ensuite le prisme et on lit le résultat en regardant dans la lunette, elle-même orientée vers une source de lumière. Les réfractomètres présentent plusieurs échelles de lecture. Nous utiliserons les échelles correspondant aux protéines totales et à la densité urinaire.

**Mode d'emploi :**

Ajustement du zéro : déposer une ou deux gouttes d'eau distillée, refermer le prisme puis, tout en effectuant la lecture, régler le zéro de l'appareil.

On peut utiliser un contrôle sérique pour vérifier sa lunette.

Sécher le prisme à l'aide d'un mouchoir en papier non pelucheux puis déposer le liquide à analyser (urine pure ou sérum).

Effectuer la lecture, noter le résultat.

Sécher et nettoyer le prisme puis le désinfecter grâce à un coton imbibé d'alcool à 60 degrés.

Ranger la lunette dans son étui. Placer l'étui dans un tiroir.

**Limites de la méthode :**

La mesure des protéines totales est de qualité pour des valeurs comprises entre 45 et 80 g/l. Hors de ce domaine, le réfractomètre est moins précis.

Pour la densité urinaire, il faut la compenser en cas de pH urinaire > 6.5. Se reporter au chapitre sur les bandelettes urinaires.

## VITESSE DE SÉDIMENTATION

**Principe :**

Du sang est placé dans un long tube de verre gradué tenu en position verticale.

Les érythrocytes tombent au fond du tube, laissant surnager une couche de plasma. La hauteur de cette couche de plasma, après 1 heure et 2 heures d'attente, traduit la vitesse de sédimentation des hématies, fortement augmentée lors d'inflammations.

**Matériel :**

Aiguille, seringue, tube EDTA, garrot. Montre, ou mieux, 2 minuteurs type "œufs à la coque"

Tube de Westergreen : diamètre intérieur = 2,5 mm graduations de 0 à 200 mm ou de 1 à 20.

Support pour tube de Westergreen, Poire de caoutchouc

**Mode opératoire :**

- Pratiquer un prélèvement de sang veineux recueilli sur EDTA (moins cher que le citrate). Bien agiter le tube.
- Préparer une dilution en mélangeant 1 ml du sang total à 0.5 ml de sérum physiologique. Bien agiter le tube.
- Aspirer le sang dans le tube jusqu'à la graduation 0 grâce à la poire (ne jamais pipeter à la bouche). Si vous avez un tube à bille, le sang reste en place, sinon il faut boucher le tube (petit bouchon, parafilm ...)
- Fixer le tube au support en s'assurant qu'il est absolument vertical. Vérifier qu'il n'y ait pas de bulle d'air dans le tube. Régler les 2 minuteurs : l'un sur une heure, l'autre sur deux heures.
- Attendre 1 heure et noter la hauteur de la couche de plasma, en mm, à partir du 0 du haut du tube ;
- Attendre de nouveau 1 heure et noter la nouvelle valeur de la hauteur de la couche de plasma ;
- Comparer avec les valeurs normales.
- La mesure de la vitesse de sédimentation devra commencer dans les 2 heures qui suivent le prélèvement.

**Valeurs normales :**

- Homme : 1H : 3 - 5 mm - 2H : 7 - 10 mm
- Femme : 1H : 4 - 7 mm - 2H : 12 - 17 mm

Toute augmentation de la vitesse de sédimentation traduit un état inflammatoire ou infectieux. Il est à noter que la VS peut rester élevée pendant 2 à 4 semaines après l'épisode infectieux. Pour compléter les marqueurs de l'inflammation, on peut faire une estimation de la CRP qui renseignera mieux sur le caractère aigu de l'inflammation. On peut aussi réaliser un dosage de l'albumine, qui diminue pendant les phénomènes inflammatoires.

Il est difficile d'interpréter une VS sans disposer de la numération des leucocytes et de la formule leucocytaire.

## TECHNIQUES HÉMATOLOGIQUES

- Calcul des constantes érythrocytaires
- Coloration MGG(May-Grunewald-Giemsa)
- Dosage de l'hémoglobine
- Estimation globale de la coagulation
- Formule leucocytaire
- Mesure de l'hématocrite
- Mesure du temps de Quick et du TP(à venir)
- Numération des érythrocytes
- Numération des leucocytes
- Numération des plaquettes
- Numération des réticulocytes
- Numération par cellule
- Réalisation d'une chambre humide
- Recherche d'hémoglobine F, H et S
- Recherche d'un déficit en G6PD
- Temps de lyse du caillot
- Temps de saignement

### CALCUL DES CONSTANTES ÉRYTHROCYTAIRES

#### Principe :

Après avoir pratiqué une numération des érythrocytes, un dosage de l'hémoglobine et mesuré l'hématocrite, on peut calculer les constantes érythrocytaires, d'une grande aide pour le diagnostic de problèmes de la lignée des globules rouges, entre autre des anémies.

Si on ne peut pas doser l'hémoglobine, on peut toutefois calculer le VGM

#### Matériel :

Calculatrice, de quoi noter

#### Mode opératoire :

Ht = hématocrite (entre 0 et 1) ; GR = nombre d'érythrocytes (en T/l) ; Hb = concentration en hémoglobine (g/l)

Calcul du VGM : Volume Globulaire Moyen (en fl)

$$\text{VGM} = \text{Ht} / \text{GR}$$

Normales : 80-100 fl , au delà, macrocytose, en deçà, microcytose.

Calcul de l'HCM : Hémoglobine Cellulaire Moyenne (en pg)

$$\text{HCM} = \text{Hb} / \text{GR}$$

Normales : 28-32 pg, au delà, hyperchromie, en deçà, hypochromie

Calcul de la CCMH : Concentration Cellulaire Moyenne en Hémoglobine (en g/l)

$$\text{CCMH} = \text{Hb} / \text{Ht}$$

Normales : 300-350 g/l, en dessous, hypochromie, au delà, impossible : le globule rouge éclaterait, il y a donc une erreur dans le dosage de l'hémoglobine, vraisemblablement surévaluée.

L'hypochromie est surtout déterminée par l'HCM, la CCHM est moins fiable et peut augmenter lors d'une anémie.

## **COLORATION MGG (MAY GRÜNEWALD GIEMSA)**

### **Matériel :**

Lames étalées, cuves et colorants

### **Mode opératoire :**

- Réaliser un frottis sanguin puis le fixer
- Transférer pendant 5mn dans une cuve à coloration contenant du colorant de May-Grunwald, dilué avec une égale quantité d'eau
- Transférer pendant 15mn (sans laver) dans une cuve à coloration contenant du colorant de Giemsa dilué préparé extemporanément (1 vol. De Giemsa + 9 vol. d'eau ).
- Rincer 2 à 3 fois dans l'eau jusqu'à ce que la différenciation soit complète : les lames prendront une coloration rose. Ceci demande de 4 à 12 mn pour le sang périphérique, moins dans le cas d'étalements plus minces.

### **Réactifs :**

#### **May Grünwald :**

- poudre de May Grünwald 5 g
- méthanol qsp 1000 ml

#### **Tampon :**

- Hydrogénophosphate de Na<sup>+</sup> 15 g
- Déhydrogénophosphate de k<sup>+</sup> 5 g
- eau neutre = eau tamponnée = eau distillée qsp 5000 ml

**Giemsa** (solution mère à diluer) : pour plus de détails, se reporter à la coloration de Giemsa.

- Colorant de Giemsa en poudre 0,75 g
- Méthanol (CH<sub>3</sub>OH) 65 ml
- Glycérine 65 ml

Mélanger tous les ingrédients dans un flacon contenant des billes de verre et agiter. Remuer 3 fois par jour, pendant 4 jours consécutifs. Filtrer.

(Consulter la notice d'emploi du fabricant, pour le cas où il indiquerait une dose différente).

Dans certains pays, surtout anglophones, la poudre de Giemsa est remplacée par le colorant de Wright

## **DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE**

### **Principe :**

On transforme toutes les formes d'hémoglobine en cyanmethémoglobine sous l'action de Cyanures. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine.

### **Prélèvement :**

Réaliser un prélèvement de sang veineux recueilli sous EDTA.

Préférer un prélèvement à jeun, les sérums hyperlipémiques pouvant fausser le dosage en augmentant la concentration. On le repère en calculant les constantes érythrocytaires avec un CCHM surévalué et donc impossible par rapport au VGM.

**Matériel :**

5 tubes en verre de 10 ml, réactif, photomètre.

**Technique :**

On part d'un étalon de 150 g/l d'hémoglobine (stable de 2 à 4 mois au réfrigérateur).

|  | DOSAGE  |       | GAMME D'ETALONNAGE |           |         |
|--|---------|-------|--------------------|-----------|---------|
| Tube   | Patient | Blanc | 75 g/l             | 112.5 g/l | 150 g/l |
| Sang ou étalon (m l)   | 20      |       | 10                 | 15        | 20      |
| NaCl 0.9 % (m l)   |         |       | 10                 | 5         |         |
| Eau distillée (ml)   |         | 2     |                    |           |         |
| Réactif cyanure (ml)   | 5       |       | 5                  | 5         | 5       |
| Boucher les tubes, bien les mélanger et les laisser reposer 10 minutes |         |       |                    |           |         |

- Photométrer à 540 nm en faisant le blanc sur l'eau.
- Construire la droite d'étalonnage de type : concentration = f (absorbance)
- Reporter les absorbances obtenues pour le tube du patient et lire la concentration en hémoglobine.
- L'étalonnage est stable plusieurs semaines. On peut passer le point 112.5 g/l comme contrôle de temps en temps.

**Réactif :****ATTENTION, LES CYANURES SONT TRES TOXIQUES : UTILISER GANTS ET MASQUES**

Dans un flacon d'un litre, dissoudre dans 600 ml d'eau distillée :

- 2 grammes de bicarbonate de soude  $5\text{NaHCO}_3$
- 50 milligrammes de cyanure de potassium (KCN)
- 200 g de ferricyanure de potassium ( $\text{FeK}_4(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Compléter à un litre avec de l'eau distillée, la solution se conserve bien.

**Précautions :**

Les produits de réaction seront jetés dans un récipient séparé qui sera si possible directement apporté dans un lieu de recyclage adapté.

Dans le cas contraire, le liquide sera jeté à au moins 400 mètres de tout point d'eau ou culture, loin d'un chemin et à l'abri des enfants et des animaux.

**Fiche technique :**

|                           |        |       |         |          |          |                          |        |    |
|---------------------------|--------|-------|---------|----------|----------|--------------------------|--------|----|
| HEMOGLOBINE               | Dosage | Cond  | Prix    | Revend.  | Réf.     | Temps de manipulation    | 7      | mn |
|                           |        |       |         |          |          | Temps d'incubation       | 10     | mn |
| Bicarbonate de sodium     | solide | 500g  | 90 F    | Fischer  | A4321169 | Frais d'eau distillée    | 0,07 F |    |
| Cyanure de potassium      | solide | 250   | 204 F   | Fischer  | A4870758 | Frais de chauffage       | - F    |    |
| Ferricyanure de potassium | solide | 2 Kg  | 819 F   | Fischer  | A4872051 | Consommables + étalon    | 0,20 F |    |
|                           |        | TOTAL | 1 113 F |          |          | Total frais annexes      | 0,27 F |    |
|                           |        | pour  | 3 000   | tests    |          | Amortisst photomètre     | 1,00 F |    |
|                           |        | soit  | 2 250   | patients |          | Coût en réactif par test | 0,49 F |    |
| Coût au test par patient  | 0,49 F |       |         |          |          | Forfait technicien       | 0,50 F |    |
| Poids du kit              | 2,7 Kg |       |         |          |          | Total général            | 2,26 F |    |

**ESTIMATION GLOBALE DE LA COAGULATION**

D'après Lancet, 1998, 352, 962

**Matériel :**

Chronomètre, une plaque de verre rodée (papier de verre) de 40 X 10 cm et de 8 mm d'épaisseur, cette plaque doit pouvoir être insérée dans un guide en bois la maintenant en diagonale à un angle de 65°, règle graduée, gants.

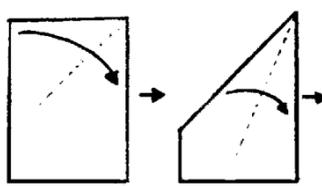
**Fabrication de l'appareil :**

**Matériel :**

Une plaque de verre de 40 X 10 cm, du papier de verre fin, des linteaux de bois de 2 X 2 cm de côté en quantité suffisante (240 cm de long), règle, une feuille de papier A4.

**Mode opératoire :**

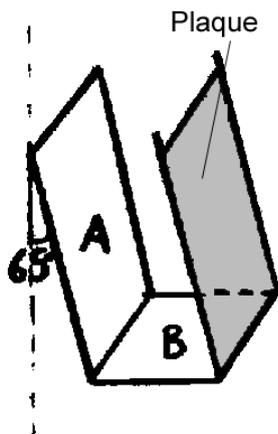
Roder soigneusement la plaque de verre à l'aide du papier de verre, le rodage doit être total et homogène. Réaliser un support conforme au plan ci-contre en prenant soin de rainurer les deux montants dans lesquels on glissera la plaque de verre et de s'aider de la feuille de papier pour l'angle.



Plier la feuille de papier A4 selon le pliage ci-dessus, on obtient un angle d'à peu près 65° (67.5 pour être exact)

Le côté A reposant sur la table, la plaque est horizontale. Le côté B reposant sur la table, la plaque est à peu près à 65°. Ainsi, on peut incliner la plaque d'un simple mouvement de bascule.

La plaque doit pouvoir s'enlever facilement pour la désinfecter.



**Mode opératoire :**

La manipulation s'effectue normalement entre 20 et 22°, à effectuer donc au petit matin dans les zones chaudes.

Laver au savon la plaque, la rincer puis passer dessus un coton imbibé d'alcool à 90°, laisser sécher.

Pratiquer un prélèvement de sang capillaire sans massage du doigt et déposer une goutte sur le verre de manière à ce que la goutte fasse 6 à 8 mm de diamètre. On peut dessiner au feutre indélébile ou au diamant, sous la plaque, deux "gabarits", cercles concentriques de 6 et 8 mm de diamètre pour vérifier la taille de la goutte. Ne pas hésiter à recommencer si la goutte est trop grande ou trop petite.

Incliner immédiatement la plaque de verre à 65° tout en déclenchant le chronomètre. Le sang s'écoule donc le long de la plaque.

Au bout d'une minute, remettre la plaque à l'horizontale : mesurer le trajet de la goutte de sang. Il est possible de graduer en centimètres la plaque sur un côté

grâce à la pointe de diamant

**Interprétation :**

La qualité de l'interprétation dépend surtout de la qualité du prélèvement. La reproductibilité ainsi que les corrélations avec un coagulomètre standard sont bonnes.

Lorsque la température ou les conditions opératoires sont légèrement différentes, il est conseillé de pratiquer un étalonnage avec du sang de personnes saines, ou mieux, en parallèle avec un automate.

Chez un sujet normal, le sang s'écoulera sur 11 cm environ en une minute.

Chez un sujet présentant un déficit en facteurs de la coagulation, cette distance augmente de manière proportionnelle au déficit

Chez une personne recevant des anticoagulants à dose adéquate, le trajet de la goutte sera de 23 à 24 cm.

**FORMULE LEUCOCYTAIRE**

**Principe :**

On colore l'étalement sanguin au May Grünwald Giemsa (MGG) pour réaliser un comptage, exprimé en

pourcentage, des différents types cellulaires leucocytaires.  
La formule leucocytaire va de pair avec la numération des leucocytes

### **Matériel**

Étalement sanguin du patient à examiner, colorant MGG, 2 agitateurs en verre placés au-dessus d'une cuve de coloration, ou tout autre système, chronomètre, râtelier de lames, huile à immersion / microscope objectif 40, pinces

**Coloration** : coloration MGG

### **Examen du frottis :**

Examiner le frottis au microscope à l'objectif x 40, et compter 100 à 200 Globules blancs en différenciant chaque type de cellules leucocytaires. Multiplier ensuite chaque pourcentage par la valeur des leucocytes, on obtient la valeur absolue de chacune des familles.

L'aspect des cellules sera aussi noté.

### **On distingue :**

Les cellules normales du sang périphérique : Polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles et basophiles), Lymphocytes (petits et grands), les monocytes.

Les cellules anormales du sang périphérique : Précurseurs médullaires des lignées normales (se reporter aux cellules et lignées sanguines)

### **Valeurs normales moyennes:**

- Polynucléaires neutrophiles 50 à 70 %
- Polynucléaires éosinophiles 1 à 3 %
- Polynucléaires basophiles 0 à 1 %
- Lymphocytes 20 à 40 %
- Monocytes 5 à 10 %

Chez l'enfant jusqu'à 6 ans, les pourcentages de PNN et de lymphocytes sont physiologiquement inversés. Une lymphocytose peut être pathologique au dessus de 4 G/l en valeur absolue chez l'adulte et au dessus de 8 G/l chez l'enfant. Dans ce cas, on réalisera une formule lymphocytaire sur 100 lymphocytes en séparant les petits lymphocytes, les grands lymphocytes, les lymphocytes basophiles, les lymphoplasmocytes et les plasmocytes.

## **HÉMATOCRITE**

### **1. MACRO - MÉTHODE**

#### **Principe :**

Prélèvement de sang veineux sur EDTA

Le sang est placé dans un tube gradué et centrifugé pour rassembler tous les globules rouges.

On lit directement la hauteur du volume occupé par les globules rouges dans le tube gradué que l'on rapporte à la hauteur totale de sang.

#### **Matériel :**

Tube gradué à hématocrite : diamètre = 0,6 cm, longueur = 9,5 cm, graduation : 0 à 100

Pipette Pasteur + poire. Centrifugeuse à main

#### **Mode opératoire :**

A l'aide de la pipette pasteur, remplir le tube de sang jusqu'à la graduation 100 ;

Centrifuger **10 minutes** à vitesse maximum (à peu près 3000 t / mn)

Lire le résultat à la hauteur de la ligne de démarcation entre les globules rouges et la couche de leucocytes.

S'assurer que l'on utilise la bonne série de graduations, vers le haut en direction du 100

**Résultats :**

Le chiffre lu est un pourcentage, le diviser par 100 pour obtenir la fraction de volume érythrocytaire.

**2. MICRO - METHODE****Principe :**

Le sang est placé dans un tube capillaire et centrifugé pour rassembler tous les globules rouges. On lit le résultat rendu en fraction de volume érythrocytaire grâce à la réglette prévue à cet effet.

**Matériel :**

Tube capillaire : diamètre = 1,5 mm, longueur = 75 mm. Cire molle en pâte à modeler  
Centrifugeuse à hématocrite ou à main si défaut. Réglette spéciale hématocrite pour la lecture

**Mode opératoire :**

- Placer l'extrémité du tube capillaire cerclée de rouge dans le tube du prélèvement sanguin. Le sang pénètre dans le tube par capillarité, le laisser se remplir environ aux  $\frac{3}{4}$ .
- Boucher, avec la cire molle, l'autre extrémité du tube capillaire, sur environ 2 mm.
- Identifier les prélèvements sur chaque tube capillaire.
- Déposer les différents tubes capillaires dans une des rainures du plateau de la centrifugeuse.
- L'extrémité bouchée doit être sur le pourtour extérieur du plateau.
- Centrifuger à grande vitesse.

Lorsque l'on a pas de centrifugeuse, on place les tubes à hématocrite numérotés dans un tube de grand diamètre au fond duquel on a déposé un peu de coton. Le côté pâte à modeler du capillaire est au fond du tube. On place ce tube dans la centrifugeuse à main et on pouline à pleine vitesse pendant 10 bonnes minutes.

**Lecture :**

- Mesurer la hauteur totale de sang : T
- Mesurer la hauteur des globules : G

On a :  $Ht = G/T$

**Valeurs normales :**

- Hommes : 0,40 - 0,50
- Femmes : 0,37 - 0,43
- Enfants (5 ans) : 0,38 - 0,44
- Nourrissons (3 mois) : 0,35 - 0,40
- Nouveaux nés : 0,50 - 0,58

**NUMÉRATION DES ÉRYTHROCYTES****Principe :**

Le sang est dilué dans un liquide approprié. On compte alors les globules rouges au microscope, sur une cellule de comptage, et on calcule leur nombre par litre de sang.

**Matériel :**

Pipette de Potain ou de Thoma pour globules rouges, liquide de dilution, cellule de Malassez ou de Thoma, lamelles, " chambre " humide, chronomètre

**Mode opératoire :**

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation : 0,5 pour pipette de Thoma, 2 pour pipette de Potain
- Essuyer l'extérieur de la pipette avec un papier buvard en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette avec le buvard.

- Compléter à la graduation 101 avec le liquide de dilution. On obtient ainsi une dilution au 1/200 ;
- Bien agiter par retournement pendant 1 minute ;
- Rejeter les 2 premières gouttes ;
- Procéder à la numération des éléments, on obtient ainsi n globules rouges (GR) ;

#### Calculs :

- Thoma : on compte la cellule :  $n \times 200 \times 10 = N \text{ GR} / \text{mm}^3$
- Malassez : on compte 1 bande :  $n \times 200 \times 10 = N \text{ GR} / \text{mm}^3$  ;

Calcul dans 1 litre de sang : en multipliant N par 10<sup>6</sup>, on obtient la numération en T/l (Terra par litre)

Comparer avec les valeurs normales

Remarque : En cas d'anémie ou de polyglobulie, adapter la dilution. Sur les pipettes de Potain, les autres graduations sont faites pour cela.

#### Liquide de dilution des GR :

- citrate trisodique 3,0 g
- formol au moins à 37 % 1,0 ml
- eau distillée QSP 100,0 ml

#### OU

- sulfate de sodium cristallisé ( $\text{Na}_2\text{SO}_4 - 10 \text{ H}_2\text{O}$ ) 5,0 g
- formol à 40 % 1,0 ml
- eau distillée QSP 100,0 ml

**Attention :** Le formol est corrosif et toxique. Bien aérer le laboratoire et refermer les flacons aussitôt après utilisation.

**Valeurs normales :**  $10^{12} / \text{l}$  peut être remplacé par G/l

- Hommes : 4,5 à 5,9  $10^{12} / \text{l}$
- Femmes : 4 à 5,5  $10^{12} / \text{l}$
- Nouveaux - nés : 5,0 à 6,0  $10^{12} / \text{l}$
- De 1 mois à 10 ans : 3,8 à 5,2  $10^{12} / \text{l}$

Il est conseillé de toujours faire un frottis sanguin, de le colorer au MGG, pour pouvoir noter en plus l'aspect des globules rouges : taille, forme, intensité de la coloration, fantômes, cellules cibles ...

## NUMÉRATION DES LEUCOCYTES

#### Principe :

Le sang est dilué à l'aide du bleu acétique, un diluant leucocytaire qui lyse les globules rouges et laisse intacts les globules blancs. On compte alors les leucocytes, au microscope, sur une cellule de comptage et on calcule le nombre de leucocytes par litre de sang.

#### Matériel :

Pipette de Potain ou de Thoma pour globules blancs, liquide de dilution, cellule de Malassez ou de Thoma (utiliser de préférence Malassez), lamelles, " chambre " humide, chronomètre.

#### Mode opératoire :

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation 0,5 pour pipette de Thoma, 2 pour pipette de Potain
- Essuyer l'extérieur de la pipette , en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette ;
- Compléter à la graduation 101 avec le liquide de dilution. On obtient ainsi une dilution au 1/20 ;
- Bien agiter par retournement pendant 1 minute ;
- Laisser reposer dans la pipette pendant 15 minutes ;

- Rejeter les 2 premières gouttes
- Procéder à la numération des éléments, on obtient ainsi n globules blancs (GB) ;

#### Calculs :

- Thoma : On compte la cellule :  $n \times 10 \times 20 = N \text{ GB} / \text{mm}^3$
- Malassez : On compte une bande :  $n \times 10 \times 20 = N \text{ GB} / \text{mm}^3$

Calcul dans 1 litre de sang :  $N \times 10^6 = x \times 10^9 \text{ GB} / \text{l}$  ; Comparer avec les valeurs normales

#### Réactifs :

Bleu acétique :

- acide acétique glacial 4,0 ml
- eau distillée QSP 200 ml
- bleu de méthylène en solution aqueuse : 10 gouttes

Lors de faibles utilisations, on peut toujours préparer la moitié du liquide. Le bleu acétique se conserve bien, à l'abri de l'air et de la lumière.

#### Valeurs normales :

- Adultes : 4 à  $9 \times 10^9 / \text{l}$
- < à 1 an : 10 à  $20 \times 10^9 / \text{l}$

## NUMÉRATION DES PLAQUETTES

#### Principe :

Le sang est tout d'abord dilué au 1/20 puis déposé dans une cellule de comptage. On compte alors les plaquettes au microscope, sur une cellule de comptage, et on calcule leur nombre par litre de sang.

#### Matériel :

Pipette de Potain ou de Thoma pour GB

Liquide de dilution, cellule de Malassez, lamelles, microscope objectif x 40, "chambre" humide, chronomètre.

#### Mode opératoire :

- Pipeter le sang jusqu'à la graduation : 0,5 pour pipette de Thoma, 2 pour pipette de Potain
- Essuyer l'extérieur de la pipette, en faisant bien attention de ne pas absorber le volume sanguin à l'intérieur de la pipette ;
- Compléter à la graduation 101 avec le liquide de dilution. On obtient ainsi une dilution au 1/20 ;
- Bien agiter par retournement pendant 1 minute ;
- Laisser reposer dans la pipette pendant 3 à 5 minutes ;
- Rejeter les 2 premières gouttes ;
- Déposer par capillarité une goutte entre lame et lamelle sur cellule de Malassez
- Laisser reposer 10 minutes en "chambre" humide ;
- Faire le comptage, on obtient ainsi n plaquettes ;

#### Calculs :

- Calcul dans  $1 \text{ mm}^3$  de sang : Malassez :  $n \times 20 \times 20 = N \text{ plaquettes} / \text{mm}^3$
- Calcul dans 1 litre de sang :  $N \times 10^6 = X \times 10^9 \text{ plaquettes} / \text{l}$
- Comparer avec les valeurs normales.

#### Liquide de dilution :

- formol (solution concentrée) 0,5 ml
- Acétone 2,5 ml
- NaCl à 9 % 20,0 ml
- eau distillée qsp 100,0 ml

#### Valeurs normales :

- Adultes : 120 à 400  $10^9$  / l (ou 120 à 400 G/l)
- Enfants de moins de 10 ans : 100 à 350  $10^9$  / l (ou 100 à 350 G/l)

Dans tous les cas, on conseille de toujours vérifier une numération plaquettaire par un étalement sanguin coloré au MGG.

Une thrombocytose est observée lors de phénomènes inflammatoires. Une thrombopénie s'observe souvent lors d'une crise de paludisme ou lors de la prise de certains médicaments comme l'héparine (phénomènes immuno-allergiques). Voir thrombopénies et thrombocytoses

Une numération plaquettaire peut être normale lors de problèmes de l'hémostase primaire. La qualité intrinsèque des plaquettes étant le facteur le plus important. Pour l'apprécier, on a recours à la mesure du temps de saignement

### NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES

La numération des réticulocytes permet de classer les anémies en régénératives et arégénératives. Il faut aussi procéder à une numération des érythrocytes.

#### Principe :

Les réticulocytes sont des globules rouges jeunes contenant encore quelques granules ou filaments d'ARN. La coloration au bleu de crésyl fait apparaître ces éléments colorés en bleu foncé, facilement différenciable de la coloration bleu-verte plus claire des corpuscules sphériques contenant de l'HbH.

#### Prélèvement :

Pratiquer un prélèvement de sang capillaire.

#### Technique :

- Mélanger dans un petit tube 6- 8 gouttes de sang et 6-8 gouttes de réactif.
- Mettre à une température proche de 37 ° pendant 10 à 20 minutes, sans surchauffer.
- Préparer des frottis très minces, laisser sécher. Ne pas contrecolorer.

#### Numération :

Se placer sur des zones dans lesquelles les érythrocytes sont bien étalés et ne se chevauchent pas.

- Compter le nombre de réticulocytes dans 100 champs : **R**
- Compter le nombre total de globules dans 10 champs : **G**

Le % de réticulocytes est égal à : **% Ret = (R / G) X 10**

On multiplie ensuite le pourcentage obtenu par le nombre total d'érythrocytes pour obtenir la valeur absolue des réticulocytes.

#### Réactif :

- Mélanger 1 gramme de bleu de crésyl brillant dans 100 ml d'eau distillée.
- Après dissolution, rajouter 0.4 gramme de citrate de sodium.
- Agiter et filtrer.

La solution se conserve longtemps, il suffit juste de la filtrer si un dépôt se forme. On peut à la rigueur remplacer le bleu de crésyl par 1 gramme de bleu de méthylène pur.

## NUMERATION D'ÉLÉMENTS PAR CELLULE

### Préalable :

Il existe différents types d'hématimètres. Ici, on ne parlera que de ceux de type MALASSEZ, THOMA et NAGEOTTE. Ces hématimètres diffèrent par leur quadrillage, mais tous 3 permettent de numérer, dans un volume précis et connu, tous les éléments visibles à l'objectif 40.

Pour obtenir une numération proche de la réalité, il est important de :

- ne pas rayer le quadrillage lors du nettoyage de l'hématimètre,
- bien monter la lamelle sur l'hématimètre,
- déposer la goutte de l'échantillon à numérer correctement, comme décrit ci-dessous,
- bien laisser sédimenter les particules à numérer avant le comptage.

### Principe :

On dépose, entre hématimètre et lamelle, une goutte de l'échantillon, dilué ou non, puis on compte dans le quadrillage (volume précis) les éléments voulus.

On ramène le résultat obtenu en éléments par litre de sang (ou autres).

### Matériel :

Hématimètre (MALASSEZ, THOMA, NAGEOTTE), Lamelle en verre épais pour hématimètre, chambre humide, pipette Pasteur, nécessaire à dilution

### Mode opératoire :

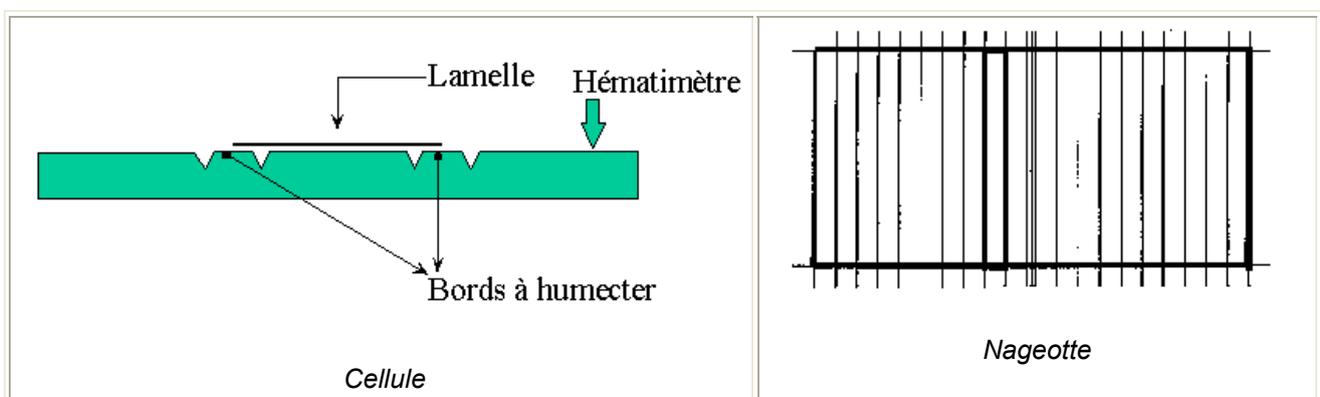
Préparation de l'hématimètre :

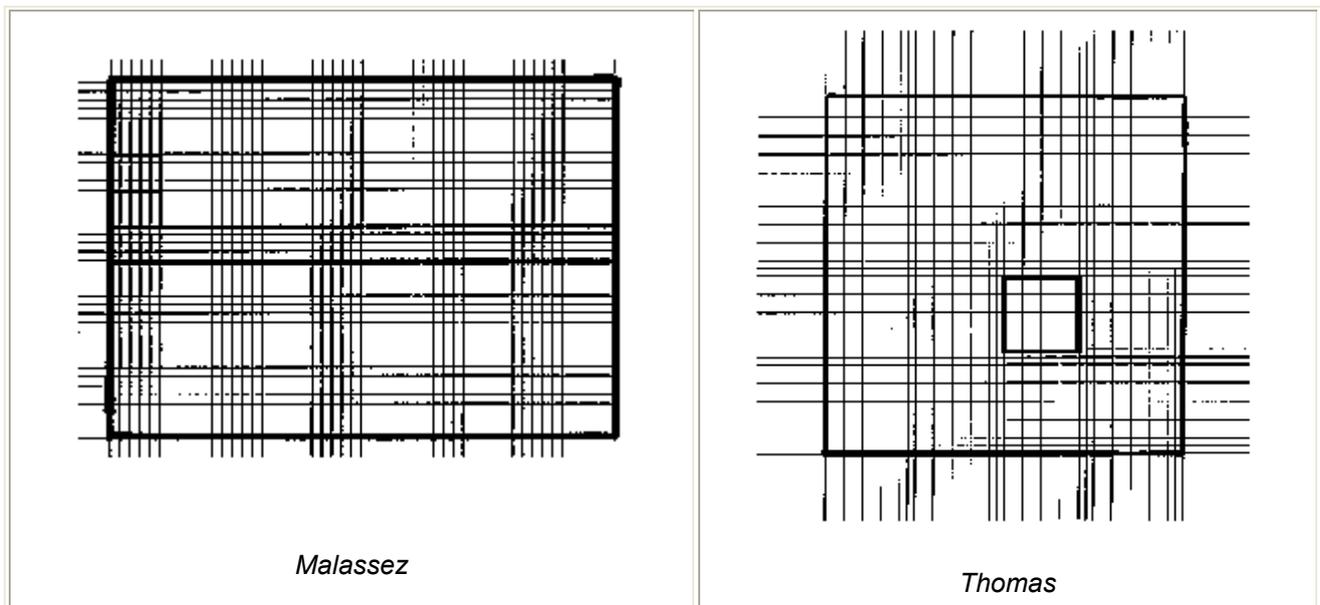
- " Coller" la lamelle sur l'hématimètre, en humectant les deux bords de celui-ci avec un petit chiffon humide propre et essoré.
- Faire glisser la lamelle sur la largeur de l'hématimètre et vérifier la bonne adhésion " hématimètre - lamelle" .
- Entre hématimètre et lamelle, laisser rentrer, par capillarité, une goutte de l'échantillon à numérer grâce à la pipette pasteur. La goutte ne doit pas déborder dans les rigoles de l'hématimètre et la goutte doit recouvrir complètement et d'un seul coup toute la surface quadrillée de l'hématimètre.
- Laisser reposer l'hématimètre à plat, en "chambre" humide pendant 10 minutes afin de laisser les éléments sédimenter.

Numération : comment compter ?

Quel que soit l'hématimètre et la surface à numérer, on compte :

- tous les éléments situés à l'intérieur des lignes délimitant cette surface,
- ET, pour les éléments situés sur les lignes, on compte soit ceux qui sont sur la ligne de gauche et pas ceux qui sont sur la ligne de droite, soit l'inverse
- ET, soit ceux qui sont sur la ligne du haut et pas ceux qui sont sur la ligne du bas, soit l'inverse.





*Malassez*

*Thomas*

**MALASSEZ :**

- 1 Rectangle = 0.01 mm<sup>3</sup>
- 1 Bande = 0.1 mm<sup>3</sup>
- La cellule = 1 mm<sup>3</sup>

**NAGEOTTE**

- 1 Rectangle = 1.25 mm<sup>3</sup>
- La cellule = 50 mm<sup>3</sup>

On compte 4 bandes, on trouve x éléments. On a : nombre éléments par mm<sup>3</sup> = x / 5

**THOMAS**

- 1 Carré = 0.004 mm<sup>3</sup>
- La cellule = 0.1 mm<sup>3</sup>

**CHAMBRE HUMIDE**

**Principe :**

La "chambre" humide est en fait une petite boîte avec couvercle, le plus souvent en matière plastique, servant à accueillir une cellule de comptage pendant le temps nécessaire à la sédimentation des éléments à numérer. On ne peut pas laisser sécher la cellule à l'air libre, la fine couche liquidienne se dessècherait des bords vers le centre

**Matériel :**

Une boîte en plastique d'une vingtaine de centimètres de long et d'une dizaine de large, avec son couvercle. 4 ou 5 mouchoirs lotus. Des tubes à hémolyse en plastique.

**Mode opératoire :**

- Placer les mouchoirs en couche successive dans la boîte
- Verser 100 ml d'eau dans la boîte, attendre que les mouchoirs aient imbibés l'eau. Rejeter le surplus d'eau en inclinant la boîte.
- Poser les 2 tubes parallèlement, sur les mouchoirs, en les espaçant de 5-7 cm.
- Poser par dessus la cellule de comptage afin qu'elle ne soit pas en contact avec les mouchoirs.
- Mettre le couvercle. Attendre une dizaine de minute la sédimentation des éléments.

Dans cette atmosphère humide, le liquide à numérer ne peut pas se dessécher et donc se concentrer. Ne pas oublier de rajouter un peu d'eau sur les mouchoirs de temps en temps

## RECHERCHE D'HÉMOGLOBINES ANORMALES

On est amené à rechercher les hémoglobines anormales lors d'anomalies de l'hémogramme portant sur la lignée érythroblastique (anémie, hémolyse, hématies anormales sur frottis, ictère ...)

HbF      HbH      HbS

## RECHERCHE D'HEMOGLOBINE F

### Principe et but :

L'Hb F résiste à l'éluéon acide contrairement à l'Hb adulte (HbA). Ce test est utilisé pour le diagnostic de la bêta thalassémie.

### Matériel :

Lames, cuves à coloration, eau distillée.

### Technique de Kleihauer modifiée Shepard :

- Diluer un volume de sang veineux (recueilli sous EDTA) avec 2 à 3 volumes de sérum physiologique
- Préparer les frottis.
- Fixer dans l'éthanol à 80 % pendant 5 minutes à température ambiante
- Laisser soigneusement sécher
- Mélanger 2 volumes de solution 1 avec un volume de solution 2
- Colorer pendant 20 secondes dans le mélange
- Rincer à l'eau distillée
- Contrecolorer avec une solution d'éosine à 0,5 % pendant 3 minutes

Les cellules contenant l'hémoglobine adulte sont complètement éluées laissant des stromas vides. Les cellules contenant l'Hb F sont colorées en rouge . Les globules blancs sont colorés en gris-pourpre. Si nécessaire on peut utiliser du sang de 48 heures

### Réactifs :

- Solution 1 - Solution alcoolique d'hématoxyline
- Solution 2 - Chlorure ferrique acidifié, pH 3.2-3.4
- Alcool à 80 %
- Eosine à 0,5% (contre-colorant)

Il est indispensable que le mélange initial soit préparé correctement. Ce mélange est stable pendant une semaine et peut être filtré en cas de précipitation. Les solutions mères peuvent se conserver 6 mois sans problèmes.

## RECHERCHE D'HEMOGLOBINE H

### But et principe :

Utilisé pour le diagnostic de l'alpha thalassémie.

Le sang coloré avec une solution de bleu Crésyl brillant fait apparaître des inclusions sphériques bleues-vertes dans les globules rouges.

### Mode opératoire :

- Mélanger dans un petit tube à essai des volumes égaux de sang frais et d'une solution colorante ajustée à pH 7,4 de 10g/l de bleu de Crésyl brillant (préparer 100 ml avec 1 g de bleu de Crésyl brillant).
- Laisser reposer le mélange pendant 1 à 3 heures avant de préparer les frottis.
- Plonger les lames dans le colorant pendant 5-10 minutes
- Laisser sécher les lames et examiner sans utiliser de contre colorant.
- L' HbH est précipité en multiples corpuscules sphériques bleues-verdâtres faiblement colorés.
- Ces corpuscules de dimensions variables peuvent être facilement différenciés des réticulocytes de coloration plus foncée.
- Le nombre d'érythrocytes contenant ces corpuscules approximativement sphériques varie d'après le type d'alpha thalassémie.

## RECHERCHE D'HEMOGLOBINE S

La recherche d'Hb S est utilisée pour le diagnostic de drépanocytose.

### Principe :

L'Hb S a tendance à précipiter lorsque l'oxygène du milieu diminue, en augmentant la falciformation des hématies.

### Matériel :

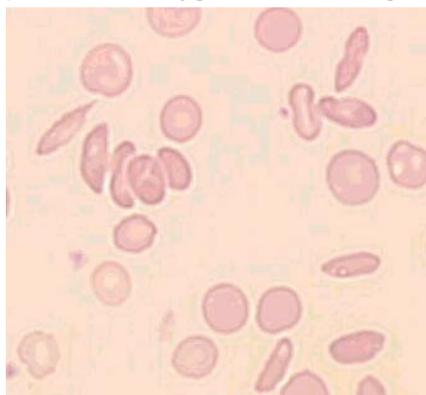
Lames, lamelles, verni à ongle, réactif, microscope.

### Prélèvement :

Procéder à un prélèvement de sang capillaire un peu spécial :

Garrotter la base du doigt à piquer. Laisser le garrot en place 4 à 5 minutes. Piquer seulement ensuite. Ceci a pour effet de diminuer la pO<sub>2</sub> veineuse et donc d'augmenter la falciformation.

**Techniques** : 2 sont possibles, une avec le réactif au métabisulfite (immédiat mais plus cher), l'autre avec le verni à ongle (plus long, moins fiable mais bien moins cher). Dans tous les cas il faut manipuler rapidement pour éviter l'oxygénation du sang.



**DRÉPANOCYTES**  
(hématies falciformes)  
Coloration MGG

Avec réactif : mettre une goutte de sang sur une lame, ajouter 2 gouttes de réactif, mélanger, couvrir d'une lamelle **sans faire de bulles d'air**. Recommencer au besoin. Laisser reposer 30 minutes puis observer la falciformation éventuelle au microscope, objectif 40.

Avec verni : mettre une goutte de sang sur une lame, couvrir d'une lamelle sans faire aucune bulle d'air. Recouvrir les 4 bords de la lamelle de verni à ongles, comme décrit dans la conservation d'une préparation.

Observer au microscope objectif 40 à 1, 2, 6 et 24 heures.  
Un sujet sain possède moins de 1 % de cellules falciformes.

### Réactif : A préparer juste avant l'emploi

Dissoudre 1 gramme de métabisulfite de sodium dans 3.5 ml d'eau distillée (ou encore 100 mg dans 350 microlitres).

Ce réactif ne se conserve pas. Il est donc conseillé de réaliser les analyses par séries.

## RECHERCHE D'UN DÉFICIT EN G6PD

### Introduction :

Le déficit enzymatique le plus répandu du globule rouge est le déficit en G6PD (glucose 6 phospho-déshydrogénase)

Il se traduit par une hémolyse importante suite à l'ingestion de certains médicaments ou de substances oxydantes. L'hémoglobine est transformée en méthémoglobine laissant apparaître des corps de Heinz dans les hématies. La transmission de cette maladie est liée au sexe (chromosome X), les hommes seront donc plus touchés que les femmes.

**Principe :**

L'hémoglobine est transformée en méthémoglobine puis colorée par le bleu de méthylène. Les hématies normales sont colorées, celles déficitaires en G6PD ne le sont pas.

**Matériel :**

6 tubes en verre à bouchon, réactifs.

**Prélèvement:**

- Pratiquer un prélèvement de sang veineux recueilli sur héparine ou mieux, sur citrate. L'héparine est davantage conseillée, mais est plus chère que le citrate... voir le chapitre anticoagulants
- Pratiquer l'examen dans les 30 minutes qui suivent le prélèvement.

**Technique :**

Préparer trois tubes : témoin normal, témoin positif et patient. Le sang des tubes témoins proviennent d'un individu ne possédant pas de déficit (personne ayant pu prendre de la quinine sans crise hémolytique par exemple). Pour ne prélever le témoin qu'une seule fois, il est conseillé de pratiquer le diagnostic une fois par semaine et donner rendez-vous aux patients le même jour à la même heure, l'analyse ne pouvant pas attendre après le prélèvement.

|   | TÉMOIN NORMAL | TÉMOIN POSITIF        | PATIENT |
|---|---------------|-----------------------|---------|
| Solution de nitrite Na  |               | 100 µl                | 100 µl  |
| Solution bleu méthylène   |               |                       | 100 µl  |
| Sang normal   | 2 ml          | 2 ml                  |         |
| Sang du patient   |               |                       | 2 ml    |
| Mélanger sans secouer en inversant une quinzaine de fois chaque tube                                |               |                       |         |
| Placer pendant 3 heures à 37 °C puis mélanger à nouveau chaque tube comme précédemment.             |               |                       |         |
| Dans 3 nouveaux tubes, mettre 100 ml de mélange de chacun des tubes, ajouter 10 ml d'eau distillée. |               |                       |         |
| Mélanger ces nouveaux tubes par retournement et comparer leur couleur                               |               |                       |         |
| <b>COULEUR</b>  | ROUGE CLAIR   | BRUN / GRIS<br>SOMBRE | ?       |

- Déficit homozygote : la coloration du tube patient est brun / gris sombre comme le témoin positif.
- Déficit hétérozygote : la coloration va du rouge au brun selon l'intensité du déficit.

**Causes d'erreurs**

Le taux d'enzyme étant beaucoup plus élevé dans les réticulocytes que dans les hématies matures, il peut être trouvé normal bien que les sujets soient porteurs d'un déficit en cas de forte réticulocytose après une crise hémolytique. En cas de doute, réaliser une numération des réticulocytes.

Ne pas réaliser l'examen avant ingestion de drogues oxydantes.

**Note :**

La solution de nitrite ne se conserve pas bien (15 jours au réfrigérateur en flacon brun). On peut préparer d'avance plusieurs tubes destinés aux témoins positifs et aux patient :

|                         | TÉMOIN POSITIF | PATIENT |
|-------------------------|----------------|---------|
| Solution de nitrite Na  | 100 µl         | 100 µl  |
| Solution bleu méthylène |                | 100 µl  |

On laisse ces tubes couchés sécher au soleil puis on les bouche hermétiquement. Ils restent stables 6 mois. On peut utiliser la solution de bleu de méthylène pour des colorations.

**Réactifs :**

Solution de nitrite de sodium 0.18 M glucosée 0.28 M :

- Glucose : 4 grammes

- Nitrite de sodium : 1 gramme
- Eau distillée : 80 ml

Solution de bleu de méthylène :

- Bleu de méthylène trihydraté : 0.15g
- Eau distillée : 1 litre

## **TEMPS DE LYSE DU CAILLOT**

### **But :**

Exploration de la fibrinolyse. Cependant, les test proposés sont relativement lents. C'est donc l'état clinique du patient qui guidera la thérapeutique, avant les résultats des tests.

### **Technique :**

Rincer au sérum physiologique deux petite tubes à hémolyse en verre, les égoutter. Effectuer ensuite un prélèvement de sang veineux recueilli sans anticoagulant. Placer 2 ml dans chacun des tubes, les boucher avec du coton cardé puis les placer à 37°. On peut aussi les laisser à température ambiante.

### **Étape 1 : Aspect du caillot**

Le caillot doit normalement se rétracter en 4 heures environ. Il est normalement rouge, grossièrement en forme de poire, et souvent attaché au bord du tube par sa partie supérieure. Aspects anormaux :

- sang pauvre en fibrine : petit caillot rouge dans le fond du tube, entouré par les hématies aynat sédimenté.
- sang pauvre en plaquettes : caillot rouge peu rétracté
- déficit en facteur (hémophilie) : caillot jaune, lent à se former, avec un culot d'hématies.

### **Étape 2 : Lyse du caillot**

Le caillot est normalement lysé totalement en 72 heures. Si cette lyse est produite en moins de 48 heures, il y a fibrinolyse.

## **MESURE DU TEMPS DE SAIGNEMENT**

### **Principe :**

Mesure du temps nécessaire à l'arrêt du saignement d'une lésion capillaire (formation du clou thrombocytaire) : exploration de l'hémostase primaire.

### **Avertissement :**

Tout traitement à base d'aspirine allonge considérablement le temps de saignement. On pratiquera le test sur une personne n'ayant pas pris d'aspirine depuis au moins 5 jours.

### **Matériel:**

Microlancettes à usage unique ou vaccinostyle, Chronomètre, désinfectant, tensiomètre, gants latex, papier absorbant (buvard, mouchoir lotus ou tissu blanc et propre).

### **Mode opératoire :**

- Désinfecter et laisser sécher la partie antéro-cubitale de l'avant bras (zone inférieure et palmaire du bras)
- Poser le brassard sur le bras et maintenir une pression de 40 mm Hg ;

- A l'aide de la lancette, pratiquer 3 points de piqûre sur la peau désinfectée (éviter les zones ayant des vaisseaux apparents) ;
- Déclencher simultanément le chronomètre,
- Recueillir le sang toutes les 30 secondes avec le buvard (en évitant de frotter le bord des plaies) ;
- Noter le temps d'arrêt du saignement (on effectue la moyenne des 3 temps ou on retiendra 2 temps concordants).

### Résultats :

Les valeurs normales se situent entre 2 et 4 minutes suivant les conditions, les lancettes et les opérateurs, il est possible de procéder à l'examen sur des volontaires sains afin d'avoir une idée des conditions opératoires.

Au delà de ce temps, il faut rechercher une anomalie quantitative ( $< 50 \text{ G / l}$ ) ou surtout qualitative des plaquettes (déficit en glycoprotéines) ou un déficit (qualitatif ou quantitatif) du facteur Willebrand. Toute anomalie confirmée (et ayant des conséquences cliniques) doit être confirmée par des tests spécialisés, réalisables par des gros laboratoires.

Une augmentation du TS non imposée par un traitement hypocoagulant impose une numération des plaquettes

N.B. : Les anémies sévères ( $\text{Hb} < 80 \text{ g / l}$ ) et les hypofibrinogénémies sévères peuvent allonger le temps de saignement.

## TECHNIQUES BACTÉRIOLOGIQUES

- |  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Coloration de Gram</li> <li>• Coloration de Ziehl</li> <li>• Coloration MGG</li> <li>• Coloration de Vago</li> <li>• Compte d'Addis</li> <li>• Culot urinaire</li> <li>• Écran de protection</li> <li>• Étalement de crachat</li> <li>• Étuve à incubation</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Examen direct bactériologique</li> <li>• Liste des bactéries pathogènes et de leurs caractères principaux.</li> <li>• Milieux de culture utilisés</li> <li>• Préparation des réactifs des tests biochimiques d'identification</li> <li>• Protocoles d'identification des bactéries</li> <li>• Test à la potasse</li> <li>• Utilisation du bec Bunsen</li> </ul> |
|--|--|

### COLORATION DE GRAM

#### Matériel :

lames, colorants

#### Mode opératoire :

- Réaliser un frottis ou un étalement
- Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger les lames dans la solution de Cristal Violet pendant 1mm.
- Lavage à l'eau en transvasant les lames
- Immerger les lames dans du Lugol en les agitant
- Laver à nouveau à l'eau
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée ou en immergeant les lames pendant une dizaine de secondes dans le décolorant.
- Laver à l'eau.
- Contre colorer avec la solution de safranine diluée pendant 20 à 30 secondes.

- Laver à l'eau et sécher à l'air.
- Observer à l'objectif X100, en immersion avec de l'huile.

**Résultat :**

Les bactéries gram + sont colorées en violet, les bactéries gram - sont colorées en rose, ceci étant du à une différence de composition de la paroi

Lorsque l'on colore peu de lames, plutôt que d'immerger les préparations, on peut les recouvrir de colorants. Le décolorant doit être changé chaque jour.

**Risques d'erreurs :**

Faux Gram (+) :

- Étalement trop épais,
- Dépôt de colorant dans le flacon de violet de gentiane : filtrer le colorant pour y remédier,
- Solution iodée de Gram mal égouttée,
- Décolorant laissé trop peu de temps (globalement, mieux vaut trop que pas assez).
- Solution de safranine laissée très longtemps (plus d'une minute).

Faux Gram (-) :

- Solution iodée de Gram laissée trop peu de temps,
- Décolorant laissé trop longtemps et mal rincé,

**Réactifs :**

1- Violet de gentiane - adaptation de Hucker :

SOLUTION A :

- Violet de gentiane 2 g
- Alcool à 95° 20 ml

SOLUTION B :

- Oxalate d'ammonium : 0,8 g
- Eau distillée 80 ml

Mélanger les solutions A et B, Laisser reposer 24 heures avant l'emploi, Verser à travers un papier filtre dans un flacon.

2- Solution iodée de gram

- Iode 1 g
- Iodure de potassium 2 g
- Eau distillée 300 ml

Dissoudre d'abord l'iodure de potassium dans environ 30 ml d'eau distillée, ajouter l'iode et mélanger jusqu'à dissolution. Ajouter le reste d'eau distillée, mélanger.

Conserver dans un flacon en verre brun ou en plastique opaque (à l'abri de la lumière).

3- Solution de safranine

SOLUTION A :

- Safranine O 2,5 g
- Alcool à 95° qsp 100 ml

SOLUTION A bis :

- Solution A 10 ml
- Eau distillée 90 ml

4- Décolorant

Mélanger à parties égales alcool à 95 ° et acétone. Le mélange est à faire extemporanément.

## COLORATION DE ZIEHL

### But :

Mise en évidence des bacilles Acido-Alcool Résistants (BAAR) : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, autres mycobactéries. Cette coloration permet aussi de mettre en évidence des bactéries comme *Nocardia* ou des micro-organismes comme *Cyclospora cayetanensis*

### Matériel :

lames, coton, alcool 95 °, pince en bois, pince en métal, porte lames, colorants, masque et lunettes.

### Préalable :

Afin d'éviter toute contamination, il est conseillé d'observer toutes les règles d'hygiène et de sécurité en vigueur. Procéder à un prélèvement de crachat puis l'étaler sur lame. Filtrer les colorants et l'eau de lavage et de dilution

### Mode opératoire :

- Poser la lame sur son support, la recouvrir de fuschine phéniquée
- Prendre un coton imbibé d'alcool avec la pince en métal, l'enflammer et chauffer la lame par le dessous jusqu'à émission de vapeurs par le colorant mais sans aller jusqu'à l'ébullition.
- Recommencer encore deux fois l'opération, le tout en une dizaine de minutes. Remettre de la fuschine si besoin, la lame doit rester couverte.
- Laver à l'eau



*Coloration de Ziehl (Sindou 1999)*

- Recouvrir d'acide sulfurique dilué au quart dans l'eau pendant 2 min, la coloration devient jaunâtre.
- Laver à l'eau
- Recouvrir d'alcool à 95 ° pendant 3 min, la coloration devient rose pale
- Laver à l'eau
- Recouvrir de bleu de méthylène phéniqué pendant 30 secondes
- Laver à l'eau, essuyer la face inférieure et laisser sécher.

### Résultat :

Observer à l'objectif X100 pendant au moins 10 min. Les BAAR apparaissent en rouge sur un fond bleu

### Contrôle de qualité :

Il existe un moyen très simple de vérifier la qualité de votre coloration. Il suffit de mélanger un peu de vaccin BCG (même périmé !) à votre propre crachat, puis de l'étaler comme les crachats à tester et de colorer toutes vos lames en parallèle.

La lame contenant le BCG est remplie de petits bacilles rouges AAR.

### Variante appliquée à la recherche du bacille de Hansen :

Le BH se décolore plus facilement que le BK et apparentés, on laissera donc la lame en contact de l'acide sulfurique pendant 1 minute et de l'alcool pendant 45 secondes.

### Préparation des réactifs :

**FUCHSINE PHÉNIQUÉE** : (tenir à l'abri de la lumière et filtrer avant usage).

- H<sub>2</sub>O distillée 2.000 ml
- Fuchsine basique 20 g

- Phénol aqueux 100 ml
- Alcool à 95 °C 200 ml

**BLEU DE MÉTHYLÈNE :** (tenir à l'abri de la lumière et filtrer avant usage).

- H2O distillée 2.000 ml
- Bleu de méthylène médicinal 40 g
- Phénol aqueux 40 ml
- Alcool à 95 °C 200 ml

**ACIDE :**

- H2O distillée 1.500 ml
- Acide sulfurique 500 ml

**ALCOOL :**

- Alcool à 100° (éthanol absolu)

## COLORATION DE VAGO

Cette coloration est utilisée pour les colorations de Treponema, Leptospira et Borrelia

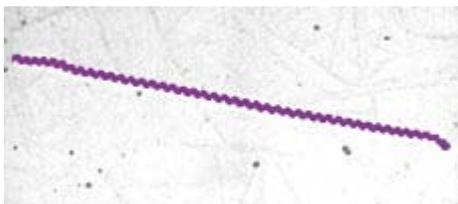
**Matériel :**

Lames étalées, colorants.

**Mode opératoire :**

Réaliser un frottis du prélèvement pathologique. **Ne pas le fixer.**

- Recouvrir la lame d'une solution filtrée de mercurochrome à 2% pendant 3 à 5 minutes
- Laver à l'eau distillée
- Colorer pendant 5 minutes avec une solution filtrée de vert de méthyle à 2%.
- Laver à l'eau distillée, laisser sécher
  - Examiner à l'objectif 100



### *Leptospira*

Les bactéries apparaissent en violet clair sur un fond presque incolore. Il est nécessaire de disposer d'un bon microscope et d'un observateur averti.

**Préparation des réactifs :**

- Solution de mercurochrome à 2 % :  
Ajouter 1 gramme de mercurochrome broyé très finement (ou de rhodochrome RP) à 50 ml d'eau distillée tiède. Agiter, laisser reposer puis filtrer. Conserver en flacon brun en filtrant de temps à autre.
- Solution de vert de méthyle à 2 % :  
Broyer très finement (important) 1 gramme de vert de méthyle dans un mortier, ajouter 50 ml d'eau distillée frémissante. Agiter, laisser reposer puis filtrer. Conserver en flacon brun en filtrant de temps à autre.

Ces réactifs se conservent environ un mois (voir les résultats sur les lames). D'autres colorations sont possibles pour colorer ces bactéries (coloration de Fontana-Tribondeau entre autre). Cependant, elles requièrent plus de réactifs, ils sont plus chers et se conservent moins bien.

## **TEST D'ADDIS HAMBURGER ou test HLM**

### **(Hématies Leucocytes par minutes)**

#### **But**

Apprécier la gravité d'une maladie rénale glomérulaire, confirmer une infection urinaire, suspecter une tuberculose urinaire, une néphropathie interstitielle ou une maladie des voies excrétrices urinaires.

#### **Principe**

Ce test consiste en la numération des hématies et des leucocytes sur des urines recueillies pendant un temps limité et bien défini, généralement 3 heures soit 180 minutes.

#### **Réalisation pratique et prélèvement**

Le sujet doit pouvoir garder ses urines pendant quelques heures et uriner spontanément (pas de sonde). Il ne faut pas faire ce test pendant les périodes menstruelles chez la femme.

Après avoir vidé complètement sa vessie et bu 2 ou 3 verres d'eau, le sujet reste allongé pendant 2 ou 3 h. Après toilette du méat ou du gland, procéder à un prélèvement d'urines. On note le volume obtenu V (en litres).

#### **Résultats et calculs**

Lors de la numération par cellule, on obtient les résultats en  $\text{mm}^3$ , on multiplie le nombre obtenu par  $10^6$  et on obtient le résultat en litres. Ce résultat est multiplié par le volume V obtenu lors du recueil puis divisé par le nombre de minutes pendant lequel s'est effectué le recueil. On obtient le compte en élément par minute.

Normalement, on doit trouver moins de 1 000 hématies et de 1 000 leucocytes par min. En pratique, seuls les chiffres supérieurs à 5 000 sont considérés comme pathologiques.

#### **Causes d'erreurs**

Non-respect de la position allongée **stricte** pendant l'épreuve.

#### **Interprétation et intérêt**

Ce test est plus précis que la numération des hématies et leucocytes du culot urinaire car il exprime un débit et non une concentration. Les résultats autour de 5 000/min méritent confirmation.

Examen fondamental dans l'exploration d'une maladie glomérulaire, son importance est moins grande dans les infections urinaires (les leucocytes et hématies sont évalués par champ microscopique lors de l'examen Cyto-Bactériologique des Urines). Cependant, il devient nécessaire en cas d'absence de germes à l'examen bactériologique (leucocyturie sans germes : suspicion de tuberculose ou infection à chlamydia).

Ce test n'a aucun intérêt dans les hématuries macroscopiques.

## **CULOT URINAIRE**

Le culot urinaire se réalise sur l'urine fraîche.  
Procéder tout d'abord à un prélèvement d'urines.

#### **Mode opératoire :**

Prélever 10 ml de l'urine au préalable agitée pour remettre en suspension les éléments, les transvaser dans un tube conique propre en verre.

Centrifuger le tube pendant quelques minutes à vitesse modérée. Vider le tube de son urine et faisant attention de ne pas verser le culot.  
Récupérer le culot avec une pipette pasteur flambée puis le déposer sur une lame, recouvrir par une lamelle, monter sur le microscope.

**On recherche :**

- Des éléments cellulaires : leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cellules rénales, autres cellules
- La flore microbienne, bacilles ou cocci
- Des éléments mycéliens ou des levures
- Des parasites (œufs de schistosomes, trichomonas vaginalis)
- Des cristaux, des cylindres, des débris.

Chaque élément est ensuite "coté" : 0 (absence de), + (rares), ++ (présence de), +++ (beaucoup de), ++++ (multitude de)

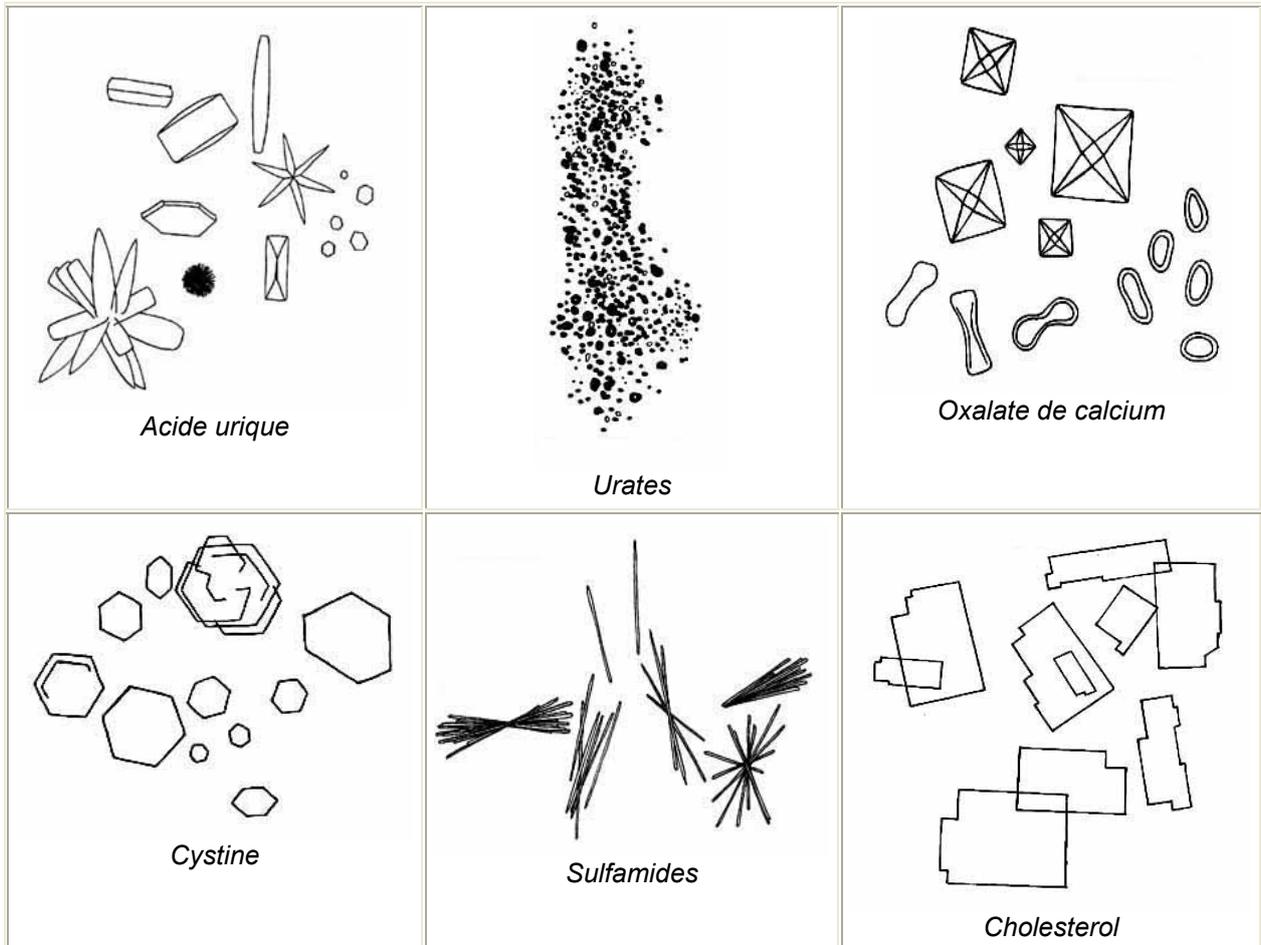
On peut ensuite retirer délicatement la lamelle pour procéder à une coloration de Gram, après avoir séché la lame, pour différencier les bactéries.

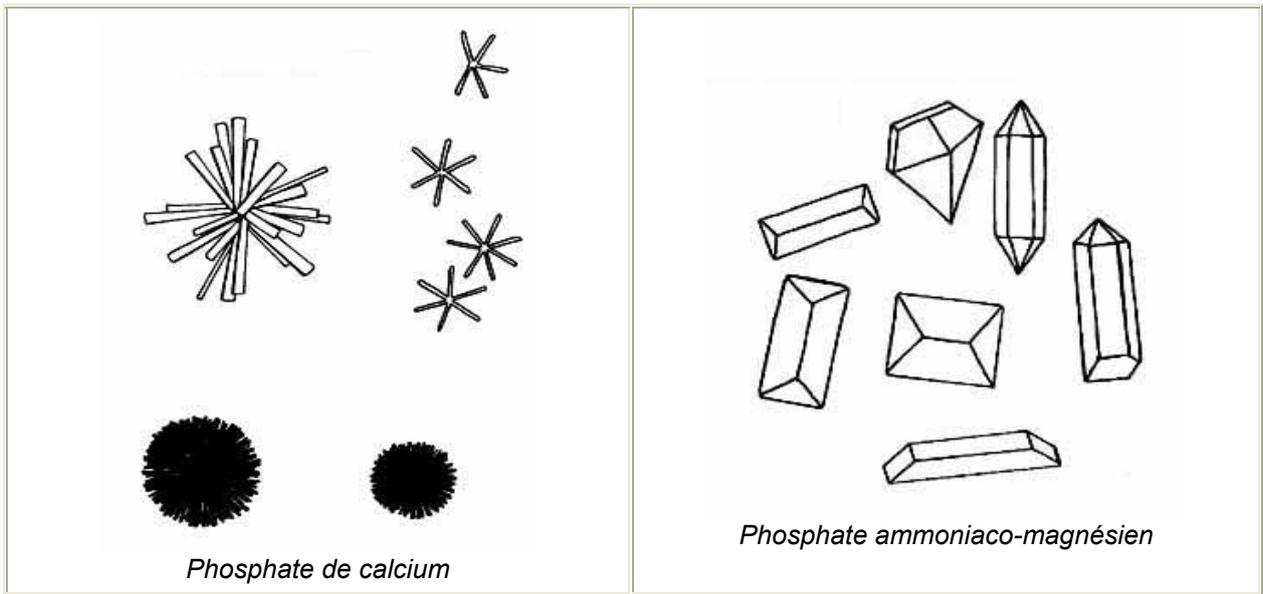
L'analyse du culot se double généralement d'une analyse par bandelette réactive (glycosurie, protéinurie).

**ELEMENTS RENCONTRES DANS LE CULOT URINAIRE : schémas**

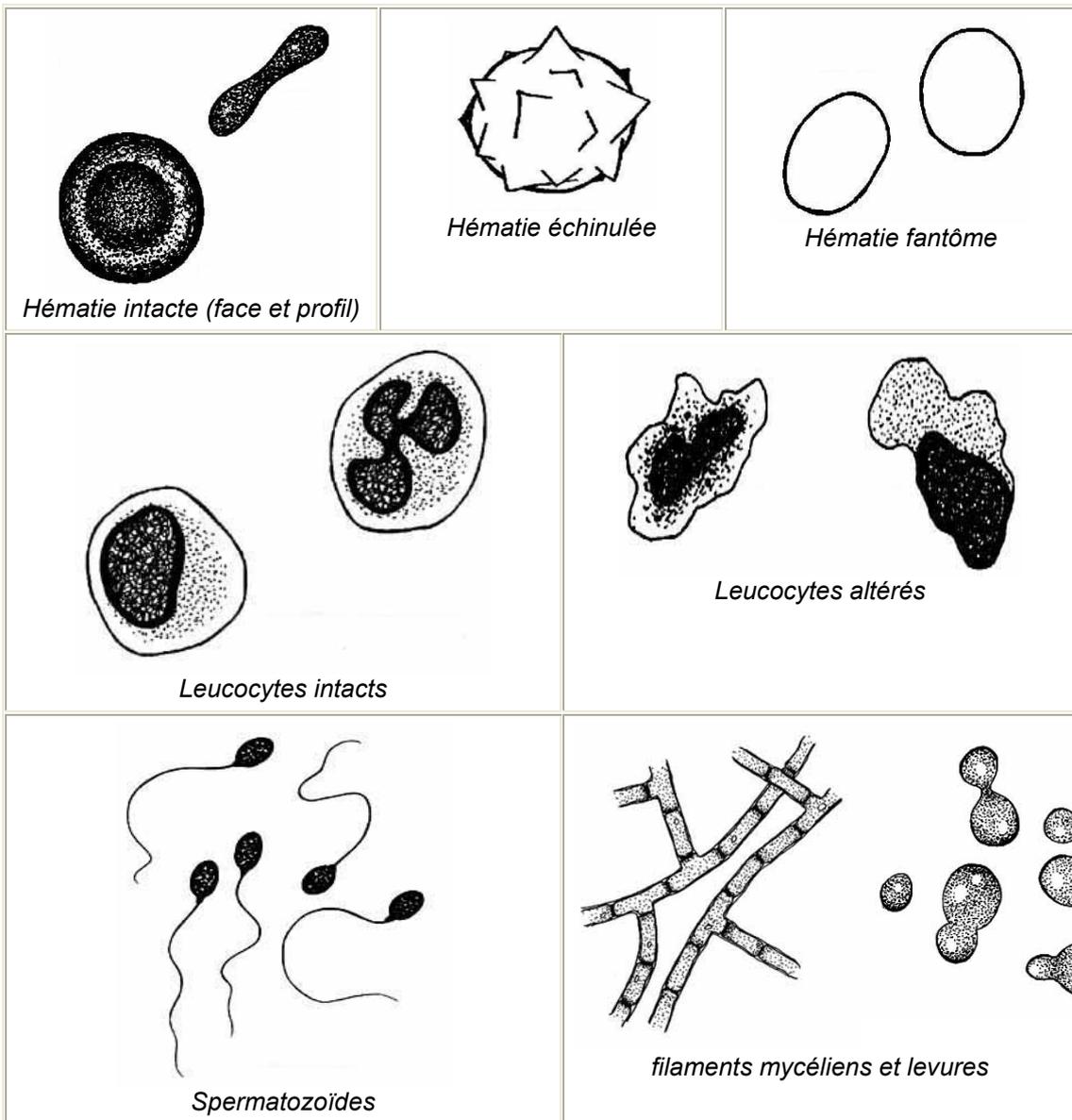
Vous pouvez aussi voir quelques photographies au microscope

**1- CRISTAUX**

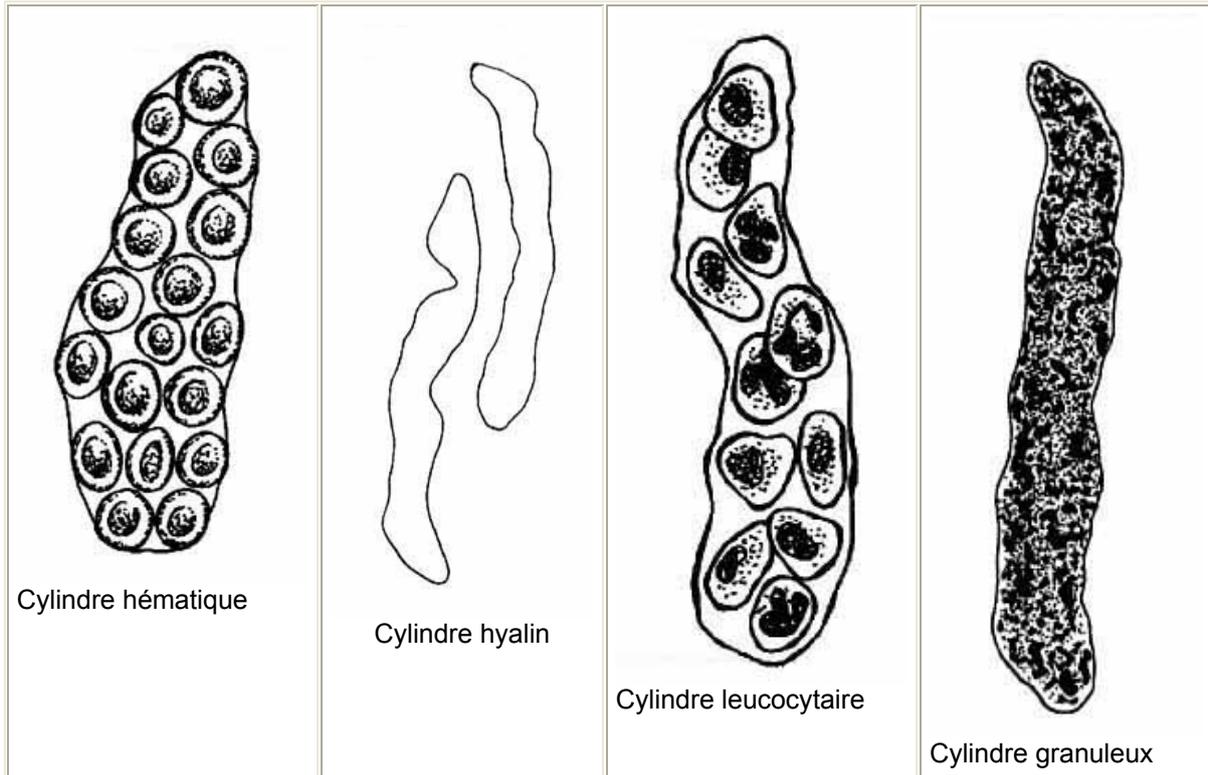




**2- CELLULES**



### 3- CYLINDRES

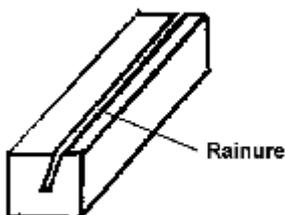


### 4- PARASITES

On peut rencontrer :

- Trichomonas vaginalis
- Schistosoma haematobium

### ÉCRAN DE PROTECTION



Un écran de protection est nécessaire pour certaines manipulations :  
Recherche de BK (étalements, colorations).

Manipulation de ponction lombaires.

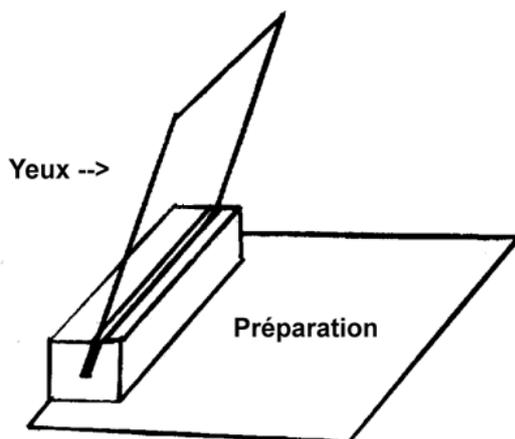
En effet, on peut, sans le savoir, produire de petits aérosols de liquides biologiques contaminants, ne serait-ce qu'avec une pipette ou encore une pastette.

#### Matériel :

Une plaque en verre de 40 X 40 X 0.6 cm aux bords adoucis (ou scotchés), une planche en bois "A" de 45 X 45 X 1 cm, une planche en bois "B" de 40 X 10 X 10, un peu de mastic de vitrier.

#### Mode opératoire :

Rainurer la planche B un peu en diagonale, sur toute sa longueur, sur 0.6 cm de large et 6 cm de profondeur :



La plaque de verre doit pouvoir tenir dans la rainure.

Coller ou visser la plaque "B" sur la plaque "A"

Ajuster la plaque de verre et la bloquer avec du mastic de vitrier, laisser sécher. Pour parfaire l'écran, on peut le recouvrir d'un plastique adhésif ou même de carrelage, ce qui facilitera sa désinfection régulière.

Pour manipuler, l'écran doit être suffisamment haut pour que les yeux soient protégés, au besoin surélever l'écran sur la paillasse en plaçant une cale sous la partie A.  
Laver régulièrement le support et la plaque de verre des deux cotés avec une éponge rincée à la Javel.

## ÉTALEMENT DE CRACHAT

Les crachats doivent être considérés comme hautement contaminants, il est conseillé de se fabriquer un petit écran derrière lequel on pourra se protéger.

**Attention :** Le matériel biologique manipulé est hautement contaminable : Éviter tout courant d'air jusqu'au séchage complet des lames. Il est conseillé de manipuler le soir avant de fermer le laboratoire et de laisser sécher la nuit quand le labo est vide.

Il est conseillé de lire tout d'abord le chapitre consacré aux prélèvements de crachats.

### Principe :

Confection d'un frottis mince des zones les plus significatives du crachat, en vue du diagnostic de la tuberculose pulmonaire. On peut aussi réaliser des étalements de crachat pour rechercher des champignons filamenteux (*Aspergillus*) ou pour confirmer une pneumonie bactérienne.

### Matériel :

Lames neuves et propres, flambées elles aussi juste avant l'étalement, pipette Pasteur coupée courte (juste au dessous de la partie évasée), poire, masque de protection, lunettes et gants.

Éviter au maximum l'utilisation d'une öse : il y a formation d'aérosols de bactéries vivante à chaque passage dans la flamme lorsque l'öse n'est pas chauffée progressivement, en commençant 5-8 cm avant l'extrémité.

### Mode opératoire :

Le choix de la parcelle à étaler a une importance capitale : on prélèvera de préférence le pus ou à défaut le mucus. Lorsque l'on a pas l'habitude, on peut s'aider en posant la boîte à crachats translucide sur un fond noir, les petites particules de pus se détachent plus facilement.

Prélever le pus avec la pipette Pasteur coupée courte puis le déposer sur la lame par de petits mouvements de va et vient afin d'étaler le crachat sur les 2/3 de la lame.



*Stérilisation progressive de l'öse (Sindou 1999)*

Le frottis ne doit pas être trop épais, il sera illisible ; il ne doit pas être trop fin, ce qui diminuerait les chances de trouver le bacille par la suite.

Il est déconseillé de procéder par écrasement standard violent, ce qui a tendance à projeter des gouttelettes de crachats dans la pièce.

Cependant on peut uniformiser l'épaisseur de l'étalement avec une deuxième lame sans trop appuyer pour éviter les projections.

Les lames sont ensuite soigneusement séchées à l'air libre pendant au moins 12 heures, protégées des insectes par une petite cage en moustiquaire (si possible métallique donc stérilisable). Il est bon de pouvoir les chauffer un peu pendant le séchage (60-70°).

Si le frottis n'est pas parfaitement sec, il se décollera à la coloration. Il peut sembler sec en surface et pourtant ne pas l'être au niveau de la lame. Si vos frottis se décollent, laissez les sécher 24 ou 36 heures de plus.

On peut ensuite colorer les lames d'étalement refroidies par la technique de Ziehl

**Attention :** Une lame comportant des BK reste contagieuse après séchage et même après coloration ! Il faut donc tout d'abord les désinfecter avec de la Javel avant de les incinérer.

## ÉTUVE A INCUBATION

Il est possible de se confectionner une petite "étuve" en partant d'une glacière. Ceci permet d'étendre le panel des examens, particulièrement dans le domaine bactériologique, par l'utilisation de milieux de culture.

### Matériel :

Une glacière, 2 bouteilles d'eau en plastique, un thermomètre.

### Mode opératoire :

Prendre la température extérieure :

- Si elle est proche de 37 °C, il est inutile d'utiliser l'étuve : les boîtes peuvent être laissées sur la paille, ou mieux dans une petite chambre humide réservée à cet effet (ne pas prendre celle des cellules de comptage, il faut en préparer une réservée aux milieux de culture).
- Si la température est inférieure à 33-34 °C (attention à la température la nuit), remplir à moitié les deux bouteilles d'eau chaude et les placer dans la glacière que l'on dépose à l'ombre. Placer le thermomètre dans la glacière et relever la température au bout d'une demi-heure. Ajuster le système en enlevant ou rajoutant de l'eau pour atteindre une température proche de 37-40 °C.

Placer les boîtes dans leur chambre humide que l'on place elle-même dans la glacière. Les observer à 24 et 48 Heures.

Il est clair que ce système est un système de "débrouillage". Il est illusoire contre toutes les bactéries fragiles ou réclamant une atmosphère particulière. Mais il fonctionne pour des activités de base.

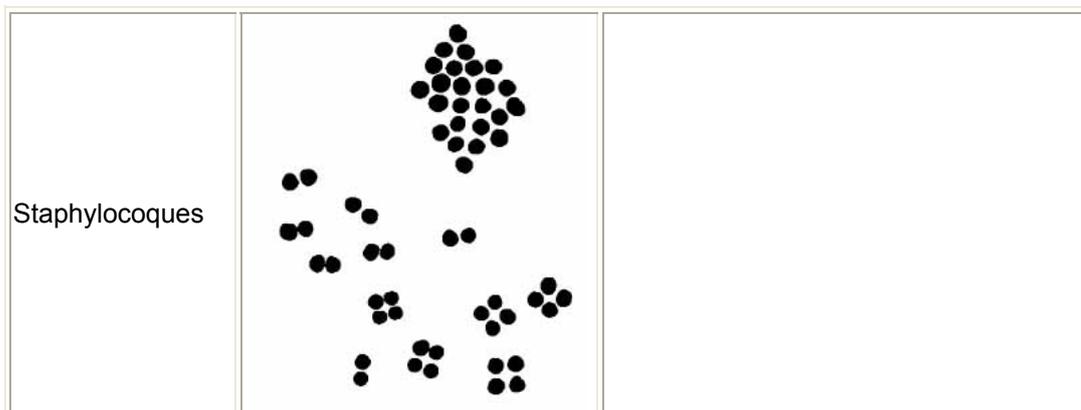
## EXAMEN DIRECT BACTÉRIOLOGIQUE

Un examen direct bactériologique est généralement fait sur un prélèvement pathologique. On réalise dans l'ordre :

- Un prélèvement : plaie, peau, crachat, oreille, gorge ...
- Un examen direct sans coloration, entre lame et lamelle
- Un examen après coloration. La coloration la plus utilisée est celle de Gram, mais on peut aussi utiliser le bleu de méthylène, le MGG ...

Voici des photos et des schémas des principales bactéries, accompagnés de commentaires :

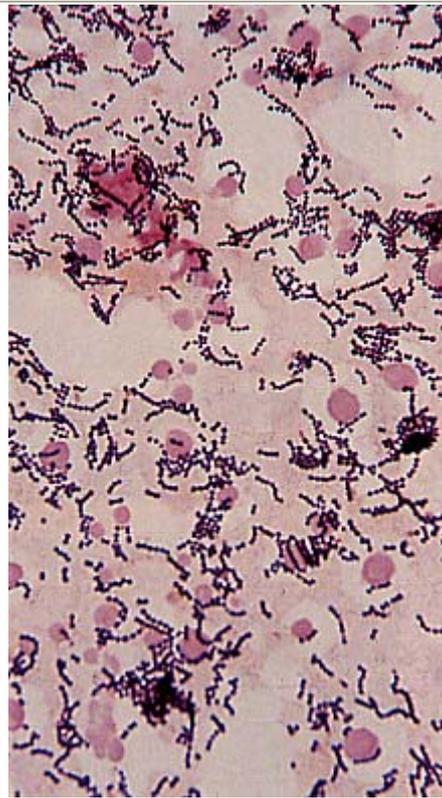
### Cocci :



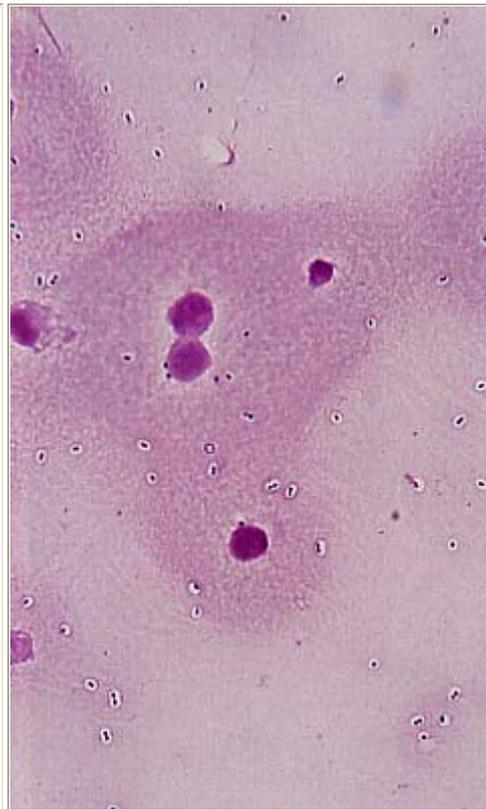
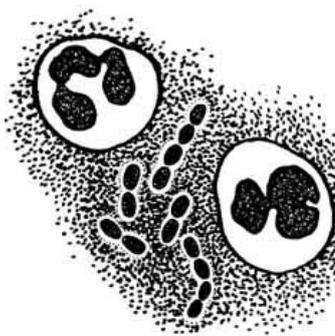
Streptocoques

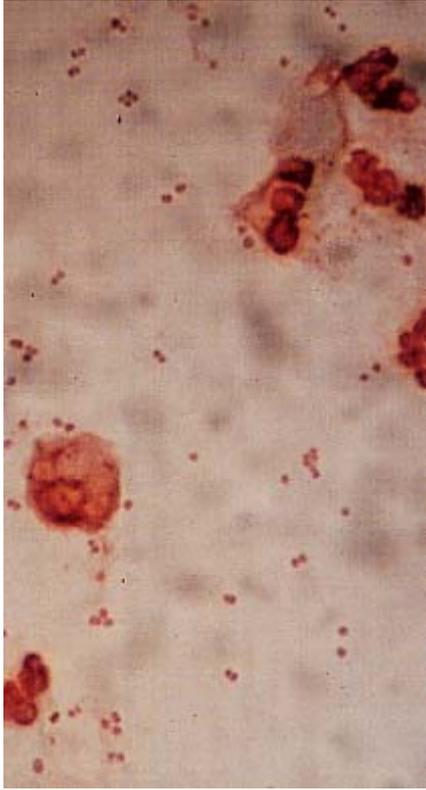
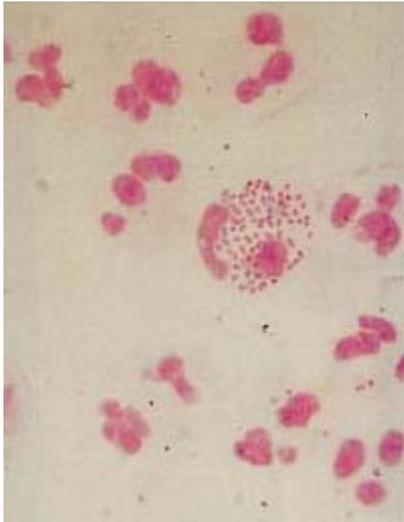


*Schéma d'un streptocoque, à droite, streptocoques à la coloration de Gram*

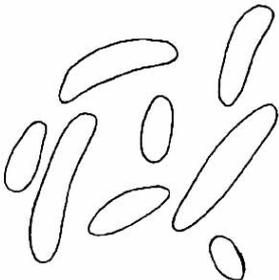


Pneumocoques



|                     |  |   |
|---------------------|--|---|
| <p>Méningocoque</p> |  <p>Schéma d'un méningocoque, à droite, méningocoques à la coloration de Gram</p> |   |
| <p>Gonocoque</p>    |  <p>Schéma d'un gonocoque, à droite, coloration de Gram</p>                     |  |

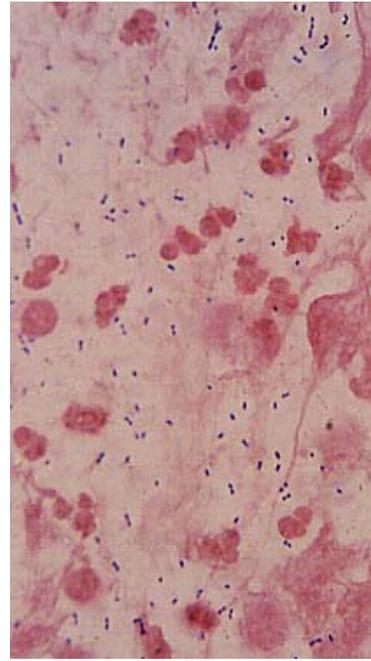
**Bacilles :**

|                        |   |  |
|------------------------|---|--|
| <p>Entérobactéries</p> |  |  |
| <p>Listeria</p>        |   |  |

*Haemophilus*



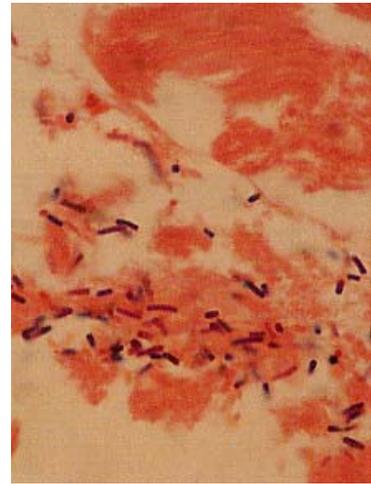
*Schéma d'Haemophilus, à droite, prélèvement de crachat contenant des Haemophilus, coloration de Gram*



*Clostridium*

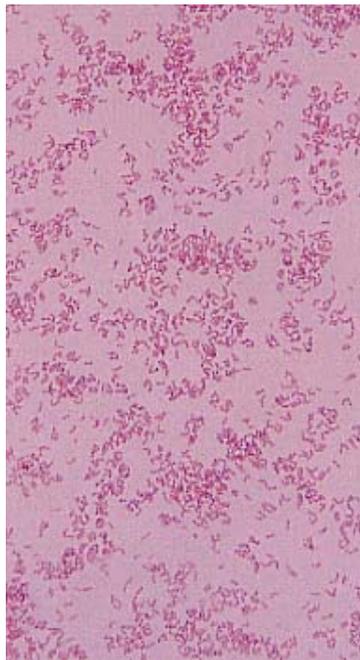


*A droite, Clostridium perfringens dans un pus, coloration de Gram*



*Corynébactéries*

*A gauche, coloration d'Ernst-Neisser, à droite, coloration de Gram*

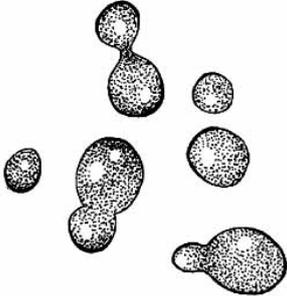


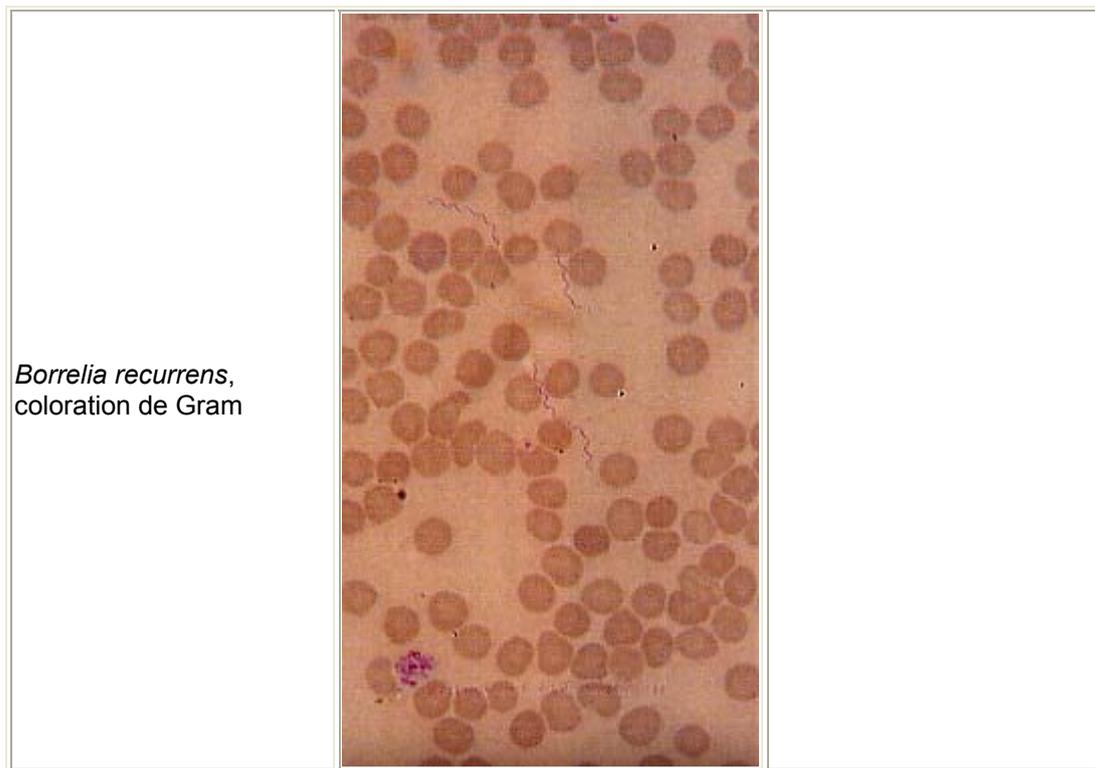
*Bacillus*

A gauche, *Bacillus anthracis*, coloration au bleu de méthylène métachromasique, à droite, *Bacillus cereus*, coloration de Gram



**Autres éléments :**

|   |  |  |
|---|--|--|
| Levures   |  A black and white micrograph showing several yeast cells. Some are single, round cells, while others are budding, showing a smaller cell attached to a larger one. |  |
| <i>Nocardia</i><br>Prélèvement de pus,<br>coloration de Gram. |  A micrograph showing a Gram-stained sample of pus. The bacteria appear as thin, branching, filamentous structures, characteristic of Nocardia.                     |  |



## RÉACTIFS D'IDENTIFICATION DES COLONIES BACTÉRIENNES

Trois grandes réactions biochimiques sont utilisées pour identifier les colonies bactériennes obtenues par culture :

- L'oxydase
- La catalase
- La nitrate réductase

### OXYDASE

#### Matériel :

Réactif, papier buvard blanc, pipette Pasteur, tube à hémolyse 5 ml + bouchon opaque

**Préparation du réactif :** Attention, le réactif est carcinogène : manipuler derrière un écran et porter gants et masque.

- Dans un petit tube à hémolyse de 5 ml, dissoudre une pointe de couteau de N, N, N', N' tétraméthyl 1-4 phénylène diamine dans 5 ml d'eau distillée.
- Boucher puis agiter.
- Recouvrir le tube de papier aluminium, il est très sensible à la lumière.
- Le réactif conservé au réfrigérateur à l'abri de la lumière, il est stable 6 heures.

Il est conseillé de pratiquer en parallèle un témoin positif (*Neisseria*) et un témoin négatif (entérobactérie)

**Test :** il est déconseillé de pratiquer le test directement sur la gélose.

- Déposer quelques gouttes du réactif sur un papier buvard blanc.
- Prélever 2 ou 3 colonies avec une pipette Pasteur flambée et les mélanger à la goutte.

#### Conclusion :

- Une coloration nettement bleue signe une oxydase positive.

- Pas de coloration ou décoloration signe une oxydase négative.

## CATALASE

### Matériel :

Eau oxygénée 10 volumes, Tween 80 (ou à défaut liquide vaisselle), récipient de 125 ml, lames

### Préparation du réactif :

- Mélanger dans un récipient de 125 ml : 100 ml d'eau oxygénée à 10 volumes et 5 ml de Tween 80 (ou liquide vaisselle).
- Le réactif conservé au réfrigérateur est stable un an.
- Il est conseillé de pratiquer en parallèle un témoin positif (Staphylocoque) et un témoin négatif (Streptocoque, entérobactérie)

### Test :

- Déposer une goutte de réactif sur une lame propre.
- Délayer une colonie dans la goutte à l'aide d'une pipette Pasteur.

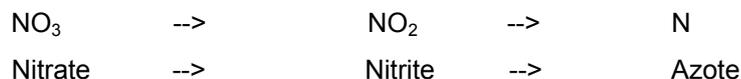
### Conclusion :

- Présence de bulles : catalase positive
- Absence de bulles : catalase négative

## NITRATE REDUCTASE

### Introduction :

Différents états de l'azote organique :



Nous disposons d'un milieu comportant des nitrates (eau nitratée), d'un test de mise en évidence des nitrites et d'un réactif catalysant la transformation nitrates --> nitrites.

### Matériel :

Tubes 15 ml, KNO<sub>3</sub>, acide sulfanilique, acide acétique, a -naphtylamine, poudre de zinc, eau peptonée.

### Préparation des réactifs :

Peptone nitratée : Ajouter 0.1 gramme de KNO<sub>3</sub> à 100 ml de milieu nutritif peptoné, stériliser en tubes.

### Mise en évidence des nitrites :

- Réactif A : mélanger 0.8 gramme d'acide sulfanilique dans 100 ml d'acide acétique 5N
- Réactif B : mélanger 0.5 gramme d'a -naphtylamine dans 100 ml d'acide acétique 5N
- Mélanger juste avant le test 1 ml des solutions A et B : on obtient le réactif de Griess.

### Catalyse de la réaction nitrates--> nitrites :

Poudre de zinc : attention il s'agit d'un réducteur fort.

### Test :

- Incuber à 37 ° pendant 24 heures une colonie bactérienne dans 5 ml d'eau peptonée nitratée
- Verser quelques gouttes du mélange A+B dans le tube.
- Si il n'y a pas apparition d'une couleur rouge, ajouter au tube une pincée de poudre de zinc

**Conclusion :** différents cas sont possibles

|                         | 1        | 2     | 3        |
|-------------------------|----------|-------|----------|
| Après le réactif A+B    | INCOLORE | ROUGE | INCOLORE |
| Après la poudre de zinc | ROUGE    | /     | INCOLORE |

|            |         |         |         |
|------------|---------|---------|---------|
| CONCLUSION | NEGATIF | POSITIF | POSITIF |
|------------|---------|---------|---------|

Dans le cas 3, les nitrates ont été réduits en nitrites, eux-mêmes réduits en azote : on ne peut donc pas mettre en évidence les nitrites, bien que le test soit positif.

## PROTOCOLES D'IDENTIFICATION

Le protocole suivant n'est pas exhaustif mais permet de séparer les bactéries en grandes entités, suffisantes pour décider du choix d'un antibiotique éventuel. Il se base sur différents caractères :

- Aspect des bactéries
- Gram
- Aspect des colonies
- Respiration
- Oxydase
- Catalase
- Nitrate réductase
- Caractères spéciaux

Les réactifs pour oxydase, catalase et nitrate réductase peuvent être fabriqués.

| Aspect | Gram | Colonies  | Respiration    | Gel       | Oxy | Cat | Nit | Caractères spéciaux   | Bactéries présumées        |
|--------|------|---|----------------|-----------|-----|-----|-----|---|----------------------------|
| COCCI  | +    | Col. blanches, crémeuses, peu ou pas hémolytiques                               | Aéro-ana       | S C<br>Ch | -   | +   | +   | petits cocci en amas (tétrades, grappes) ou isolés  | Staphylococcus             |
|        |      | Col. jaunes, crémeuses, bêta hémolytiques, parfois blanches                     | Aéro-ana       | S C<br>Ch | -   | +   | +   | petits cocci en amas (tétrades, grappes) ou isolés  | S. aureus                  |
|        |      | Très fines colonies grises, hémolyse alpha (verte)                              | Aéro-ana       | S         | -   | -   | X   | Cocci en chaînettes, parfois longues  | Streptococcus alpha hémol. |
|        |      | Colonies très fines, grises, hémolyse bêta                                      | Aéro-ana       | S         | -   | -   | X   | Cocci en chaînettes, parfois longues  | Streptococcus bêta hémol.  |
|        |      | Fines colonies, parfois muqueuses, ou légèrement creusées au centre, hémolyse a | Aéro-ana       | S         | -   | -   | X   | Cocci en chaînettes, diplocoques en flamme de bougie, parfois en agglutinats sur culture riche. | Pneumococcus               |
|        |      | Colonies grises, de taille moyenne, parfois a hémolytique                       | Aéro-ana       | S B       | -   | -   | X   | Cocci en courtes chaînettes, un peu allongés  | Enterococcus               |
|        |      | Col blanches, fines, parfois sèches   | Aérobie strict | S C<br>Ch | +   | +   | -   | gros cocci amas ou tétrades   | Micrococcus                |
|        | -    | Colonies grises, muqueuses, de taille moyenne ou petite                         | Aérobie strict | C S       | +   | +   | -   | Cocci diplocoques " grains de café "  | Neisseria pathogène        |
|        |      | Colonies jaunes ou blanches, rugueuses de petite taille                         | Aérobie strict | S         | +   | +   | -/+ | Cocci diplocoques " grains de café "  | Neisseria saprophyte       |

|       |   |  |                |       |         |   |        |  |  |
|-------|---|--|----------------|-------|---------|---|--------|--|--|
|       |   | Colonies blanches en anaérobie                                 | Anaérobie      | A     | +       | + | +      | diplocoques  | Flore de Veillon                               |
| BACIL | + | Colonies muqueuses, parfois irisées, de taille variable        | Anaérobie      | A     | -       | - | +      | Gros bacilles à bouts carrés, parfois mobiles, sporulés                  | Clostridium                                    |
|       |   | Fines, grises ou blanches                                      | Aéro-ana       | S     | -       | + | +      | Bacilles effilés, "en fuseau " plus ou moins longs, rangés en palissades | Corynebacterium                                |
|       |   | Grosses colonies, parfois hémolytiques, muqueuses              | Aéro-ana       | S     | +/-     | + | +      | Gros bacilles, parfois sporulés, mobiles , parfois Gram négatif          | Bacillus                                       |
|       |   | Taille moyenne, bêta hémolytique ressemble aux strepto         | Aéro-ana       | S     | -       | + | -      | Petits bacilles de mobilité particulière, rangés en palissades           | Listeria                                       |
|       | - | Grosses colonies, souvent muqueuses                            | Aéro-ana       | S B H | -       | + | +      | Bacilles polymorphes, mobiles (sauf exception)                           | Entérobactéries                                |
|       |   | Colonies de taille plus ou moins grosse, brillantes, muqueuses | Aérobie strict | S B   | +       | + | +      | Bacilles très mobiles, fins  | Pseudomonas                                    |
|       |   | Colonies grises, fines, muqueuses ou sèches                    | Aéro-ana       | C     | +, lent | + | +<br>- | Bacilles longs, fins, parfois enchevêtrés                                | Haemophilus non ducreyi<br>Haemophilus ducreyi |
|       |   | Grosses colonies muqueuses                                     | Aérobie strict | B S   | -       | + | -      | Coccobacilles, souvent isolés, capsulés                                  | Acinetobacter                                  |
|       |   | Grosses colonies plates, lisses                                | Aérobie strict | S B   | +       | + | +      | Bacilles très mobiles  | Vibrio   |
|       |   |  |                |       |         |   |        |  |  |

- S Gélose au sang
- B BCP
- H Hektoen
- C Gélose chocolat (sang cuit)
- Ch Gélose Chapman (hypersalé)
- A Gélose anaérobie

## TEST A LA POTASSE

### But :

Ce test permet la mise en évidence d'amines telles que cadavérine, tyramine, histamine et putrescine, et permet de préciser l'étiologies de certaines infections vaginales. Le test à la potasse est généralement réalisé en parallèle à la mesure du pH vaginal (papier pH, échelle 4 à 8).

### Mode opératoire :

Déposer une goutte de sécrétion vaginale sur une lame propre, puis ajouter une goutte de KOH à 10 %. Le test est dit positif s'il se dégage une odeur nauséabonde caractéristique de poisson avarié.

### Résultats :

Le test est :

- négatif dans les vaginites à Candida.
- toujours positif dans les vaginoses de déséquilibre de la flore.
- parfois positif dans les infections à Trichomonas.

## UTILISATION DU BEC BUNSEN

Le bec Bunsen permet différentes choses :

- Manipulation en atmosphère stérile, dans un rayon de 20 cm autour du bec
- Stérilisation rapide d'objets contaminés (öses)
- Fixation d'une lame
- Chauffage d'un réactif (dosage de l'urée, coloration de Gomori-Grocott)
- Chauffage d'un autoclave (préférer un bleuet ou un brûleur spécial à adapter sur la bouteille)
- Fabrication des pipettes Pasteur

La source de gaz provient de bouteilles. Il est conseillé de posséder 2 bouteilles pour pouvoir assurer un roulement correct. Il faut pouvoir prévoir l'approvisionnement en gaz, on peut généralement s'arranger avec le PEV pour profiter de sa logistique.

On peut rappeler les différentes consignes pour la manipulation du gaz :

- Ne jamais serrer les raccords avec une pince.
- Ne jamais fumer à proximité.
- Ne pas poser le bec sur une table en bois, le poser sur une paillasse.
- Toujours fermer le robinet de la bouteille lors de non utilisation du bec.
- Ne jamais laisser de produits inflammables près du bec : éther, alcools, coton cardé ....

## MATERIEL ET LOCAUX NECESSAIRES

### LOCAUX NECESSAIRES

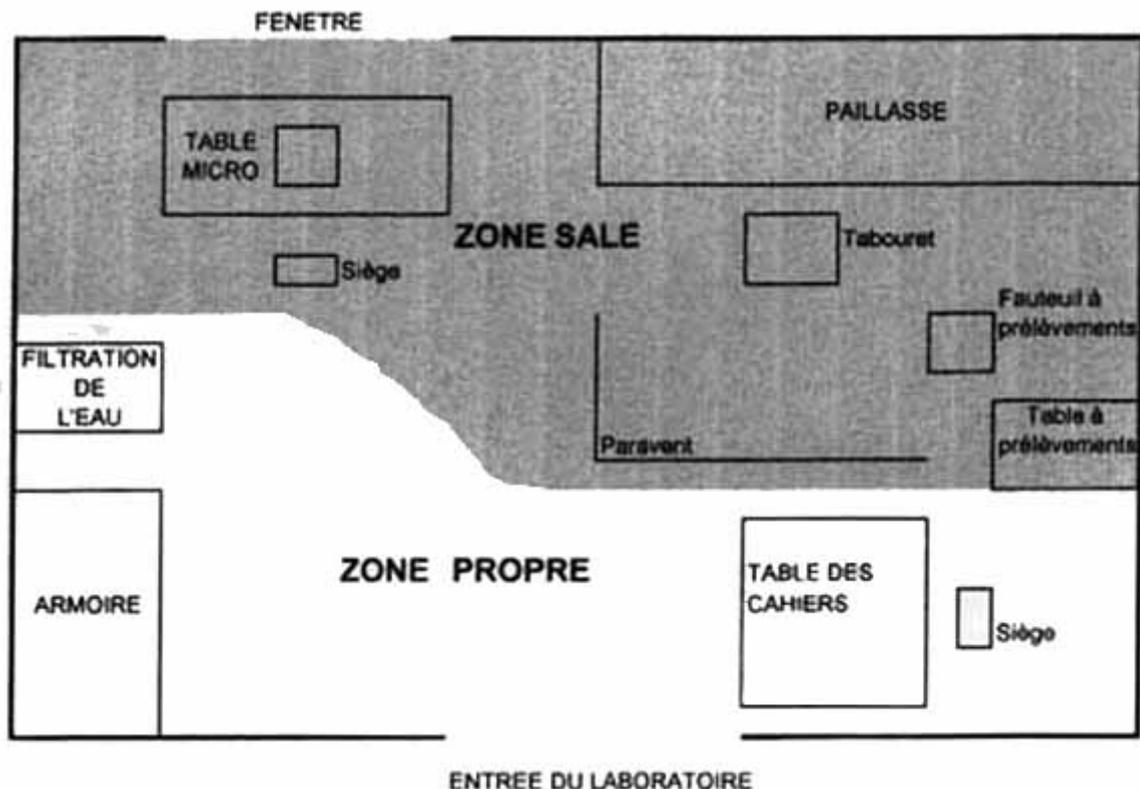
**Locaux :**

Il n'y a pas besoin d'une pièce extraordinaire pour installer le laboratoire, cependant, certains points sont conseillés :

- L'idéal est de posséder un local en "dur" (en opposition aux constructions en terre ou banco) avec de préférence un faux plafond, surtout si le toit est en paille. Une pièce à l'intérieur d'un dispensaire préexistant peut parfaitement servir.
- Pièce d'au moins 15 m<sup>2</sup> comportant une porte-fenêtre et une fenêtre de grande taille orientée face au soleil (souvent l'Ouest). Porte et fenêtre possèdent une moustiquaire amovible (charnières) pour retenir la poussière ainsi que des renforts (barreaux et verrous) contre le vol.
- Sol surélevé par rapport à l'extérieur pour éviter le passage des poussières et du sable. Si ce n'est pas le cas, fabriquer une petite marche derrière la porte. L'idéal est de posséder un sol cimenté et peint (à défaut d'être carrelé) qui permettra un entretien facile.
- Murs peints et lavables. L'idéal est de pouvoir carrelé les murs jusqu'à 1 mètre 80.

## Mobilier :

- Une table et une chaise sont nécessaires, on les dispose face à la fenêtre pour y déposer le microscope solaire. Une seconde table peut être utile pour enregistrer les examens et tenir ses cahiers de pailasse. En effet, il vaut mieux que le microscope soit seul sur sa table pour éviter les vibrations, les contaminations et les accidents (casse).
- Une armoire solide fermant à clef sert à ranger le matériel et les réactifs. Ne pas oublier de penser aux réactifs photosensibles qu'il faudra conserver à l'abri de la lumière. Si l'atmosphère est très humide, on peut assécher l'air dans l'armoire en y suspendant un petit sac en tissu (de la taille d'un gant de toilette) rempli de potasse que l'on changera régulièrement une fois par semaine ou que l'on régénèrera en la chauffant doucement dans un feuille de papier aluminium agitée sur le bec Bunsen.
- Une planche d'au moins 2 mètres sur 80 centimètres recouverte de carreaux de salle de bain et montée sur tréteaux hauts ( pour pouvoir travailler assis et debout) deviendra une pailasse sous laquelle on rangera différents jerricans :
  - eau distillée.
  - les différentes poubelles
- Au-dessus de la pailasse, on pourra fixer contre le mur 3 ou 4 planches solides, de 30 cm de large, qui serviront d'étagères afin d'y stocker le matériel courant. Le reste du matériel sera stocké dans l'armoire.
- Contre cette planche, on place un petit évier (ou une cuvette en émail ou en inox) au-dessus duquel est placé un jerrican d'eau filtrée muni d'un robinet.
- C'est sur cette planche que viennent prendre place la centrifugeuse à mains et le bec Bunsen ou le bleuet butagaz.
- Devant la pailasse se trouve un tabouret haut.
- Un coin de la pièce est réservé à la filtration de l'eau : on place un seau rempli d'eau à filtrer à 1 mètre de hauteur, on y plonge un filtre (ou une bougie filtrante) embouché à un tuyau et on recueille l'eau par siphonnage dans un jerrican situé en-dessous.
  - Une dernière partie de la pièce est réservée aux prélèvements : on y trouve un fauteuil (à accoudoirs) ainsi qu'une petite table sur laquelle se trouve tout le nécessaire à prélèvements (seringues, tubes, garrots, coton, désinfectants, anticoagulants, vaccinstyles, lames, gants). On peut isoler cette partie de la pièce par un paravent afin de réaliser les prélèvements tranquillement.



## Gestion de l'espace :

Il est conseillé de délimiter deux zones dans le laboratoire :

- Une zone PROPRE : comprenant l'armoire de stockage, la filtration de l'eau et la table contenant les cahiers d'enregistrement et de rendu de résultat.
- Une zone SALE : comprenant la paillasse et ses poubelles, la table du microscope, l'évier et la partie prélèvements.

Du matériel contaminé ou contaminable ne devra jamais se trouver dans la zone propre. Inversement, du matériel propre ou des cahiers de rendu de résultats ne devront jamais se trouver dans la zone sale. Il faudra souvent se déplacer pour prendre des notes, mais c'est important pour la sécurité du technicien comme des patients. On peut se reporter au chapitre consacré à la sécurité pour la conduite du technicien vis-à-vis des risques biologiques. Un modèle de gestion de l'espace est proposé. Il ne s'agit que d'un exemple. Chacun optimisera son local avec son équipement et ses possibilités.

## MATÉRIEL NECESSAIRE POUR LA MISE EN PLACE DE L'ÉTAPE 1

### Liste du matériel

| ARTICLES                   | Cond.    | Nombre   | Prix cond. | Prix total | Prix total |
|----------------------------|----------|----------|------------|------------|------------|
|                            | unitaire | de cond. | FF         | FF         | euro       |
| acétone / alcool 2 L       | 1        | 1        | 150,0 F    | 150 F      | 22,9       |
| adjuvant 10 ml             | 1        | 3        | 10,0 F     | 30 F       | 4,6        |
| alburstix                  | 50       | 1        | 60,0 F     | 60 F       | 9,1        |
| alcool 95° 500 ml          | 1        | 1        | 80,0 F     | 80 F       | 12,2       |
| ampoules CaCl <sub>2</sub> | 1        | 10       | 2,0 F      | 20 F       | 3,0        |
| bacs à coloration          | 1        | 4        | 150,0 F    | 600 F      | 91,5       |
| bec Bunsen                 | 1        | 1        | 150,0 F    | 150 F      | 22,9       |
| becher verre               | 1        | 3        | 30,0 F     | 90 F       | 13,7       |
| bleu de méthylène 20 g     | 1        | 1        | 50,0 F     | 50 F       | 7,6        |
| bleu méthylène 2,5 L       | 1        | 1        | 180,0 F    | 180 F      | 27,4       |
| blouses labo               | 1        | 15       | 60,0 F     | 900 F      | 137,2      |
| boite à lames              | 1        | 4        | 15,0 F     | 60 F       | 9,1        |
| boîtes de Pétri en verre   | 1        | 5        | 20,0 F     | 100 F      | 15,2       |
| boîtes en métal            | 1        | 2        | 40,0 F     | 80 F       | 12,2       |
| boîtes métal               | 1        | 5        | 50,0 F     | 250 F      | 38,1       |
| bouchon robinet            | 1        | 8        | 10,0 F     | 80 F       | 12,2       |
| bouchons                   | 1        | 4        | 10,0 F     | 40 F       | 6,1        |
| bouchons à pots à BK       | 1        | 100      | 0,5 F      | 50 F       | 7,6        |
| bougie filtrante           | 1        | 1        | 380,0 F    | 380 F      | 57,9       |
| carbonate de Na 200 g      | 1        | 1        | 50,0 F     | 50 F       | 7,6        |
| cellophane en rouleau      | 1        | 1        | 5,0 F      | 5 F        | 0,8        |
| centrifugeuse à main       | 1        | 1        | 1 300,0 F  | 1 300 F    | 198,2      |

|                           |     |    |         |       |       |
|---------------------------|-----|----|---------|-------|-------|
| Chlorure de baryum 500g   | 1   | 1  | 80,0 F  | 80 F  | 12,2  |
| citrate trisodique        | 1   | 1  | 80,0 F  | 80 F  | 12,2  |
| compresses                | 2   | 50 | 2,0 F   | 100 F | 15,2  |
| compresses                | 1   | 40 | 2,0 F   | 80 F  | 12,2  |
| conductimètre             | 1   | 1  | 250,0 F | 250 F | 38,1  |
| cones bleus               | 100 | 2  | 150,0 F | 300 F | 45,7  |
| cones jaunes              | 100 | 2  | 150,0 F | 300 F | 45,7  |
| crystalliseur plastique   | 1   | 1  | 80,0 F  | 80 F  | 12,2  |
| crystalliseur verre       | 1   | 1  | 70,0 F  | 70 F  | 10,7  |
| détendeur + tuyau         | 1   | 1  | 150,0 F | 150 F | 22,9  |
| diluant GB 500 ml         | 1   | 1  | 120,0 F | 120 F | 18,3  |
| diluant GR 500 ml         | 1   | 1  | 120,0 F | 120 F | 18,3  |
| diluant plaquettes 500 ml | 1   | 1  | 120,0 F | 120 F | 18,3  |
| distributeur              | 1   | 1  | 890,0 F | 890 F | 135,7 |
| eau oxygénée 10 V         | 1   | 2  | 16,0 F  | 32 F  | 4,9   |
| écouvillons               | 100 | 4  | 50,0 F  | 200 F | 30,5  |
| EDTA 250 g                | 1   | 3  | 100,0 F | 300 F | 45,7  |
| encre de Chine            | 1   | 1  | 12,0 F  | 12 F  | 1,8   |
| entonnoir                 | 1   | 2  | 4,0 F   | 8 F   | 1,2   |
| enveloppes                | 1   | 2  | 5,0 F   | 10 F  | 1,5   |
| éprouvette 10 ml          | 1   | 1  | 50,0 F  | 50 F  | 7,6   |
| éprouvette 1000 ml        | 1   | 1  | 60,0 F  | 60 F  | 9,1   |
| éprouvette 250 ml         | 1   | 1  | 60,0 F  | 60 F  | 9,1   |
| éther 1 L                 | 1   | 1  | 130,0 F | 130 F | 19,8  |
| filtres                   | 50  | 1  | 90,0 F  | 90 F  | 13,7  |
| filtres                   | 100 | 2  | 120,0 F | 240 F | 36,6  |
| flacon 1 L                | 1   | 1  | 120,0 F | 120 F | 18,3  |
| flacon 500 ml             | 1   | 1  | 30,0 F  | 30 F  | 4,6   |
| flacon brun 250 ml        | 1   | 1  | 20,0 F  | 20 F  | 3,0   |
| flacons bruns 125 ml      | 1   | 20 | 10,0 F  | 200 F | 30,5  |
| flacons plastique         | 1   | 3  | 5,0 F   | 15 F  | 2,3   |
| gants latex               | 2   | 40 | 5,0 F   | 200 F | 30,5  |
| gants produits chimiques  | 1   | 10 | 10,0 F  | 100 F | 15,2  |
| Giemsa 1 L                | 1   | 3  | 180,0 F | 540 F | 82,3  |
| glucose 50 g              | 1   | 2  | 30,0 F  | 60 F  | 9,1   |

|                           |      |    |           |         |       |
|---------------------------|------|----|-----------|---------|-------|
| glucostix                 | 50   | 2  | 60,0 F    | 120 F   | 18,3  |
| glucotrend                | 50   | 1  | 60,0 F    | 60 F    | 9,1   |
| glycérine 500 ml          | 1    | 1  | 30,0 F    | 30 F    | 4,6   |
| godets plastique          | 1    | 50 | 0,5 F     | 25 F    | 3,8   |
| grand portoir             | 1    | 1  | 100,0 F   | 100 F   | 15,2  |
| grilles bec Bunsen        | 1    | 2  | 30,0 F    | 60 F    | 9,1   |
| huile immersion 500 ml    | 1    | 1  | 350,0 F   | 350 F   | 53,4  |
| iode 10 g                 | 1    | 1  | 50,0 F    | 50 F    | 7,6   |
| iodure de K 200 g         | 1    | 1  | 80,0 F    | 80 F    | 12,2  |
| lamelles                  | 100  | 5  | 60,0 F    | 300 F   | 45,7  |
| lamelles                  | 1000 | 2  | 400,0 F   | 800 F   | 122,0 |
| lames                     | 50   | 14 | 45,0 F    | 630 F   | 96,0  |
| lames latex               | 1    | 5  | 20,0 F    | 100 F   | 15,2  |
| lancettes                 | 200  | 7  | 80,0 F    | 560 F   | 85,4  |
| lancettes                 | 100  | 1  | 40,0 F    | 40 F    | 6,1   |
| Lipoven                   | 1    | 2  | 20,0 F    | 40 F    | 6,1   |
| lugol 250 ml              | 1    | 2  | 80,0 F    | 160 F   | 24,4  |
| lunettes protection       | 1    | 4  | 40,0 F    | 160 F   | 24,4  |
| lunette réfractométrique  | 1    | 1  | 800,0 F   | 800 F   | 122   |
| marqueurs noirs           | 1    | 5  | 7,0 F     | 35 F    | 5,3   |
| masques                   | 25   | 2  | 50,0 F    | 100 F   | 15,2  |
| May Grunewald 1 L         | 1    | 3  | 180,0 F   | 540 F   | 82,3  |
| métabisulfite de Na 200 g | 1    | 1  | 80,0 F    | 80 F    | 12,2  |
| Métabisulfite de Na 50 g  | 1    | 1  | 100,0 F   | 100 F   | 15,2  |
| méthanol 1 L              | 1    | 4  | 120,0 F   | 480 F   | 73,2  |
| microscope solaire        | 1    | 1  | 1 250,0 F | 1 250 F | 190,5 |
| microtainers              | 20   | 4  | 50,0 F    | 200 F   | 30,5  |
| minuteurs                 | 1    | 3  | 50,0 F    | 150 F   | 22,9  |
| NaCl                      | 1    | 1  | 60,0 F    | 60 F    | 9,1   |
| nageottes                 | 1    | 4  | 250,0 F   | 1 000 F | 152,4 |
| NaOH 250 g                | 1    | 3  | 50,0 F    | 150 F   | 22,9  |
| Nitrite de Na 50 g        | 1    | 1  | 100,0 F   | 100 F   | 15,2  |
| Nitroprussiate de Na 50g  | 1    | 1  | 120,0 F   | 120 F   | 18,3  |
| noir amido 50 g           | 1    | 1  | 150,0 F   | 150 F   | 22,9  |
| panier                    | 1    | 1  | 80,0 F    | 80 F    | 12,2  |

|                            |     |     |         |         |       |
|----------------------------|-----|-----|---------|---------|-------|
| pate Ht                    | 10  | 1   | 90,0 F  | 90 F    | 13,7  |
| petit portoir              | 1   | 1   | 50,0 F  | 50 F    | 7,6   |
| pinces fer                 | 1   | 2   | 60,0 F  | 120 F   | 18,3  |
| pipette                    | 1   | 20  | 10,0 F  | 200 F   | 30,5  |
| pipette auto 200-1000 µl   | 1   | 1   | 800,0 F | 800 F   | 122,0 |
| pipette auto 20-200 µl     | 1   | 1   | 800,0 F | 800 F   | 122,0 |
| pipette pasteur            | 200 | 3   | 120,0 F | 360 F   | 54,9  |
| pipette Pasteur            | 100 | 1   | 100,0 F | 100 F   | 15,2  |
| pipette potain GB          | 1   | 5   | 30,0 F  | 150 F   | 22,9  |
| pipette précision 30 µl    | 1   | 2   | 20,0 F  | 40 F    | 6,1   |
| pissette                   | 1   | 1   | 20,0 F  | 20 F    | 3,0   |
| poires                     | 1   | 2   | 90,0 F  | 180 F   | 27,4  |
| portoir bactério           | 1   | 1   | 50,0 F  | 50 F    | 7,6   |
| portoir bec bunsen         | 1   | 1   | 100,0 F | 100 F   | 15,2  |
| portoir pipettes           | 1   | 1   | 100,0 F | 100 F   | 15,2  |
| portoir VS                 | 1   | 1   | 100,0 F | 100 F   | 15,2  |
| pots à copro par 50        | 1   | 9   | 150,0 F | 1 350 F | 205,8 |
| pots crachat               | 1   | 100 | 0,5 F   | 50 F    | 7,6   |
| rouleau pH                 | 1   | 1   | 110,0 F | 110 F   | 16,8  |
| safranine 250 ml           | 1   | 2   | 80,0 F  | 160 F   | 24,4  |
| savon liquide 500 ml       | 1   | 2   | 80,0 F  | 160 F   | 24,4  |
| scotch en rouleau          | 1   | 2   | 6,0 F   | 12 F    | 1,8   |
| seringues 10 ml + aiguille | 1   | 10  | 3,0 F   | 30 F    | 4,6   |
| seringues 50 ml            | 1   | 2   | 10,0 F  | 20 F    | 3,0   |
| seringues en verre         | 1   | 6   | 15,0 F  | 90 F    | 13,7  |
| soufre 1 Kg                | 1   | 1   | 80,0 F  | 80 F    | 12,2  |
| spatules                   | 1   | 2   | 60,0 F  | 120 F   | 18,3  |
| spéculum                   | 1   | 3   | 250,0 F | 750 F   | 114,3 |
| stylos bille               | 10  | 1   | 17,0 F  | 17 F    | 2,6   |
| sulfate d'ammonium 1 Kg    | 1   | 1   | 150,0 F | 150 F   | 22,9  |
| surplatine                 | 1   | 1   | 350,0 F | 350 F   | 53,4  |
| tensiomètre                | 1   | 1   | 800,0 F | 800 F   | 122,0 |
| testeur pH                 | 1   | 1   | 250,0 F | 250 F   | 38,1  |
| thermomètre                | 1   | 1   | 200,0 F | 200 F   | 30,5  |
| tube verre                 | 1   | 10  | 2,0 F   | 20 F    | 3,0   |

|                           |     |    |         |          |        |
|---------------------------|-----|----|---------|----------|--------|
| tubes 10 ml               | 1   | 50 | 1,0 F   | 50 F     | 7,6    |
| tubes à centrifuger       | 1   | 50 | 3,0 F   | 150 F    | 22,9   |
| tubes à hémolyse          | 100 | 6  | 50,0 F  | 300 F    | 45,7   |
| tubes en verre            | 1   | 20 | 2,0 F   | 40 F     | 6,1    |
| tubes Ht                  | 200 | 24 | 50,0 F  | 1 200 F  | 182,9  |
| tubes verre               | 1   | 50 | 1,0 F   | 50 F     | 7,6    |
| tubes VS                  | 1   | 50 | 2,0 F   | 100 F    | 15,2   |
| verre à pied              | 1   | 2  | 60,0 F  | 120 F    | 18,3   |
| vert de malachite 1 L     | 1   | 1  | 150,0 F | 150 F    | 22,9   |
| violet de gentiane 250 ml | 1   | 2  | 80,0 F  | 160 F    | 24,4   |
|                           |     |    |         |          |        |
|                           |     |    |         | 29 281 F | 4463,6 |
|                           |     |    |         | FF       | euro   |

## COUTS DE L'INSTALLATION

Ces frais s'entendent pour deux personnes, tout en sachant que ces deux personnes ont pu disposer d'une voiture gratuitement et ont été logés gratuitement pendant tout le séjour, aussi bien à Ouagadougou (arrivée et départ) qu'à Bobo-Dioulasso et qu'à Sindou. De plus, les deux personnes ont effectué un travail bénévole, non rémunéré.

- Billets d'avion : 2 X 3700 = 7400 FF
- Fret aérien + dédouanement + transport Ouagadougou Bobo-Dioulasso : 21400 FF
- Frais de nourriture : on compte un forfait de 60 FF/jour et par personne, soit 60 X 2 X 20 = 2400 FF
- Participation au salaire du futur assistant du technicien de laboratoire : 3000 FF
- Dépenses sur place : en FCFA : total 184 000 FCFA (1840 FF)

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| Batterie 45 AH                  | 30000 |
| Bus Ouagadougou Bobo AR         | 27000 |
| Câble batterie                  | 350   |
| Consigne bouteille de gaz       | 20000 |
| Écouvillon pour verrerie        | 300   |
| Entretien voiture               | 1000  |
| Essence voiture                 | 77162 |
| Étagères                        | 14000 |
| Fournitures diverses            | 4325  |
| Gaz 12 Kg                       | 3500  |
| Lanières                        | 1000  |
| Péages routiers                 | 1000  |
| Planche et clous égouttoirs     | 1500  |
| Plaquettes d'appel des patients | 500   |

|                      |      |
|----------------------|------|
| Téléphone carte 32 U | 2385 |
|----------------------|------|

**Coût total de la mission :**

|                          | <b>FF</b>          | <b>euro</b>   | <b>%</b>    |
|--------------------------|--------------------|---------------|-------------|
| <b>Matériel</b>          | 29 281,00 F        | 4463,6        | 44%         |
| <b>Fret</b>              | 21 400,00 F        | 3262,2        | 33%         |
| <b>Billets d'avion</b>   | 7 400,00 F         | 1128,0        | 11%         |
| <b>Salaire assistant</b> | 3 000,00 F         | 457,3         | 5%          |
| <b>Nourriture</b>        | 2 400,00 F         | 365,9         | 4%          |
| <b>Frais sur place</b>   | 1 840,00 F         | 280,5         | 3%          |
|                          |                    |               |             |
| <b>TOTAL</b>             | <b>65 321,00 F</b> | <b>9957,5</b> | <b>100%</b> |

Il est à noter que tout le matériel a été préparé pour le fret grâce à la société bioMérieux, fret particulièrement contraignant lorsque l'on transporte des produits dangereux (méthanol, acétone, éther, acides et bases diverses ...) avec de nombreuses contraintes d'emballage et de signalisation des colis. Le fret en lui-même ainsi que le dédouanement et les frais de transitaires ont été payés par bioMérieux. Nous tenons donc à les en remercier.

Antoine Pierson, 1998-2001