

**REPUBLIQUE GABONAISE
UNION- TRAVAIL – JUSTICE**



MINISTRE DE LA SANTE ET DE LA FAMILLE

SECRETARIAT GENERAL

DIRECTION GENERALE DE LA SANTE

**PROGRAMME NATIONAL DE LUTTE
CONTRE LA TUBERCULOSE**

SERVICE LABORATOIRE

Manuel de prélèvement et de transport des échantillons pour le diagnostic de la tuberculose

Équipe de rédaction

La rédaction de ce manuel a été coordonnée par le Service laboratoire du PNLT avec l'appui du CERMEL : **Dr Marguerite Massinga Loembé** (Service laboratoire PNLT et CERMEL), **Mme Nina Mbenga Roguet** (Service laboratoire PNLT) et **Mr Axel Sidney Biyoghe** (Service laboratoire PNLT).

Nous tenons à remercier les personnes suivantes pour leurs contributions à l'élaboration du manuel :

Dr Krystina Mengue Me Ngou Milama :	URDS/LNSP
Mme Estelle Youbounangoye :	URDS/LNSP
Mme Oriane Cordelia Aboumegone :	URDS/CHUL
Mr Maixent Eya'a	CDT de Nkembo
Mme Audrey Dikwedi	CDT de Nkembo
Mr Boniface Umeh	CDT de Melen
Mr Alain Georges Emame	CDT Oyem
Mr Arnault Guy Mfoumbi	CERMEL
Dr Richard Onanga	CIRMF

Table des matières

Abbréviations	4
Préface.....	5
1.Réseau national des laboratoires TB au Gabon	6
2.Répertoire des tests diagnostiques et indications	7
3.Délai d'exécution des tests pour le diagnostic de la TB.....	8
4.Collecte des expectorations pour le diagnostic de la tuberculose	8
4.1.Instructions concernant la collecte des expectorations.....	9
4.2. Qualité des prélèvements	9
4.3. Identification des prélèvements	11
4.4. Remplissage du formulaire de demande d'examen	12
5.Système de référence des prélèvements pour le diagnostic de la tuberculose.....	13
5.1. Généralités.....	13
5.2. Circuit de transport.....	13
5.3. Emballage	15
5.4. Documentation	17
5.5. Formation	17
6. Exigences techniques pour la références des échantillons diagnostiques	18
6.1. Référence des échantillons pour la microscopie	18
6.2. Référence des échantillons pour le test Xpert MTB/RIF	19
6.3. Référence des échantillons pour la culture	20
6.4. Référence des échantillons pour le TDS	24
7.Réception des échantillons	25
8. Rapportage des résultats et rétro-information.....	26
8.1 Rapportage des résultats sur la demande d'examen.....	26
8.2 Interprétation du résultat	26
8.3 Validation des résultats	26
8.4 Remise des résultats	26
8.5 Résultats critiques.....	27
9. Suivi et évaluation	28
10. Références Bibliographiques.....	29
Annexes	30

Abbreviations

CERMEL	Centre de recherches médicales de Lambaréné
CDT	Centre de diagnostic et de traitement de la tuberculose
CT	Centre de traitement de la tuberculose
CIRMF	Centre International de Recherches Médicales de Franceville
FM	Microscopie à Fluorescence
IATA	International Air Transport Association
LNR	Laboratoire national de référence
LPA	Line Probe Assay (test moléculaire d'hybridation sur bandelette)
LSN	Laboratoire Supranational
MGIT	Système de culture en milieu liquide
PEC	Prise en charge
PNLT	Programme National de Lutte contre la Tuberculose
TB	Tuberculose
TB-RR	Tuberculose Résistante à la Rifampicine
TB-MR	Tuberculose Multi-Résistante
TB-UR	Tuberculose Ultra-Résistante
TDS	Test de dépistage de la pharmaco-résistance aux antituberculeux
TEP	Tuberculose Extra-Pulmonaire
URDS	Unité de Recherche Diagnostics Spécialisés
ZN	Ziehl Nielsen

Préface

A l'instar des autres Etats membres de l'OMS, le Gabon a adopté la Stratégie visant à "Mettre fin à la Tuberculose" à l'horizon **2030**, pour contribuer à l'atteinte de la cible **3.3** de l'Objectif **3** de Développement Durable.

Aussi, le Programme National de Lutte contre la Tuberculose est à pied d'œuvre pour faire en sorte que tous les documents normatifs nécessaires à une lutte efficace contre la tuberculose soient disponibles. Ces documents nationaux sont une adaptation des directives techniques internationales, particulièrement celles de l'OMS. Elles sont élaborées pour donner les bonnes pratiques en matière de prise en charge de la tuberculose quelle que soit sa forme.

La prise en charge de la tuberculose repose avant tout sur un diagnostic correct et fiable de la maladie, réalisé à partir d'un bon prélèvement d'échantillons chez des cas présumés de tuberculose.

La connaissance et le respect des modalités et procédures de collecte et de transport des échantillons restent fondamentaux pour assurer le diagnostic de cette maladie.

Ainsi, le présent Manuel de collecte et de transport des échantillons pour le diagnostic de la tuberculose a été élaboré pour faire en sorte que tous les prestataires des Centres de Traitement (**CT**), Centres de santé périphériques, des Centres de Diagnostic et de Traitement (**CDT**), des pôles Xpert, soient capables d'assurer, dans des conditions optimales, la collecte et le transport des échantillons, pour un diagnostic précoce et efficace de la tuberculose.

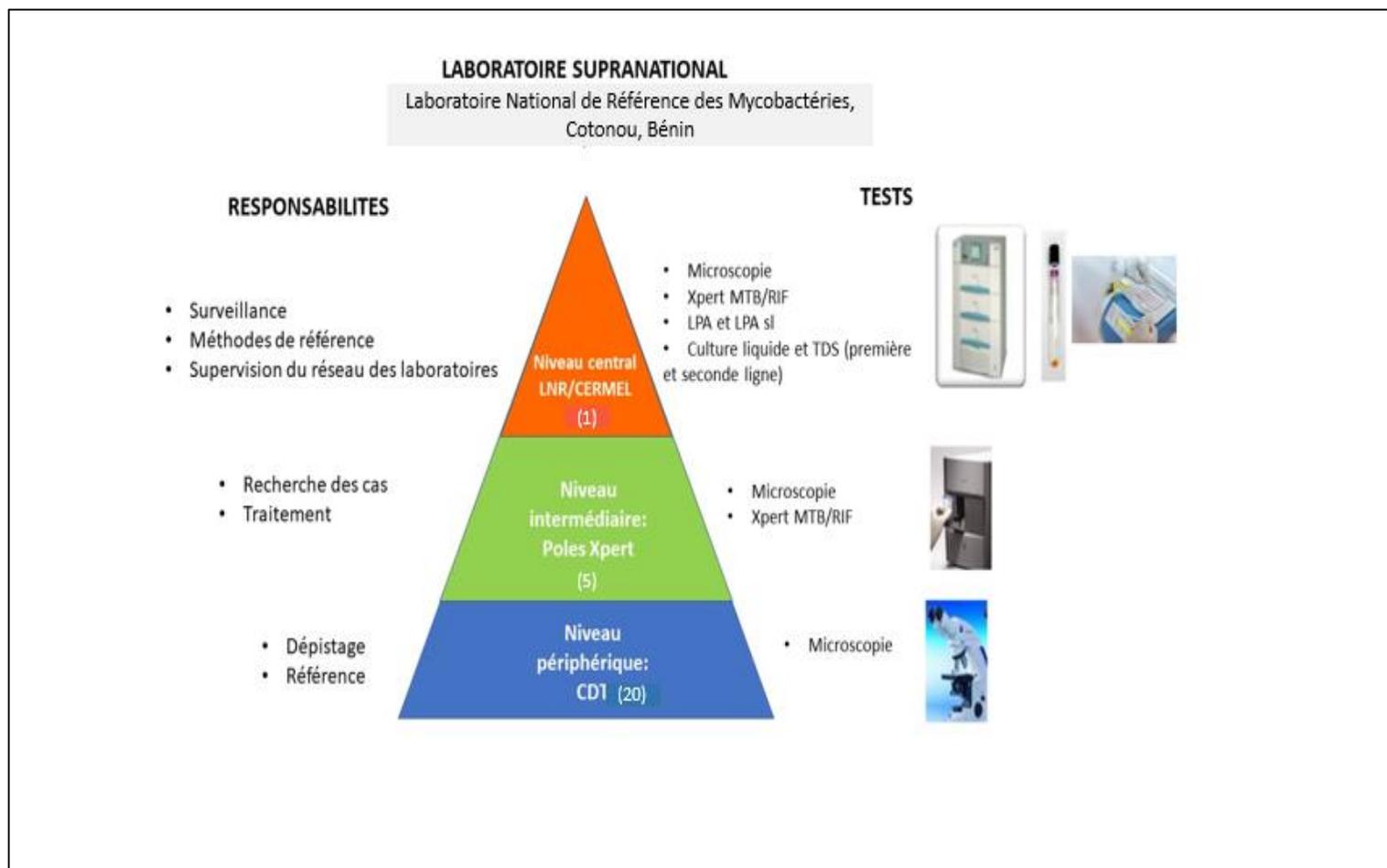
Cette première édition du manuel a été élaborée avec l'implication des tous les acteurs nationaux concernés, à qui j'adresse mes sincères remerciements, particulièrement le Centre de Recherches Médicales de Lambaréné (**CERMEL**) pour son expertise et le Fonds Mondial qui va permettre la diffusion de cet outil.

J'exhorte vivement les personnels de santé à en faire bon usage.

**Le Ministre d'Etat,
Ministre de la Santé et de la Famille**

Denise MEKAM'NE EDZIDZIE

1. Réseau national des laboratoires TB au Gabon



Note : la liste exhaustive des Pôles Xpert et celle des CDT sont présentées en annexe, incluant contacts

2. Répertoire des tests diagnostiques et indications :

Test	Échantillon	Indications	Utilité chez populations particulières **		
			Enfants	PVVIH	TEP
Microscopie (ZN et FM)	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations 	<ul style="list-style-type: none"> Dépistage de la TB sensible Suivi du traitement de la TB sensible Suivi du traitement de la TB RR/MR/UR 			
Xpert MTB/RIF	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations Autres* 	<ul style="list-style-type: none"> Dépistage de la TB RR/MR chez les populations à risque Dépistage de la TEP 	√	√	√
Culture liquide (MGIT)	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations Autres* 	<ul style="list-style-type: none"> Suivi du traitement de la TB RR/MR/UR Préalable au TDS 	√	√	√
LPA de 1er ligne	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations (TDS direct) Isolat de culture (TDS indirect) 	<ul style="list-style-type: none"> Profil des résistances aux antituberculeux de 1^{er} ligne (RIF, INH) chez les cas TB RR/MR 			
LPA de 2ème ligne	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations (TDS direct) Isolat de culture (TDS indirect) 	<ul style="list-style-type: none"> Profil des résistances aux antituberculeux de 2d ligne (LEV, OFX, KAN, AMK, CAP, ETH) chez les cas TB RR/MR Sélection des cas éligibles au schéma thérapeutique court de seconde ligne Dépistage des cas TB-UR 			
TDS phénotypique	<ul style="list-style-type: none"> Expectorations (TDS direct) Isolat de culture (TDS indirect) 	<ul style="list-style-type: none"> Confirmation du TDS moléculaire Identification des résistances additionnelles acquises en court de traitement 			

* Lavage broncho-alvéolaire, aspiration gastrique, liquide céphalorachidien, tissus ganglionnaires et autres tissus

** Populations souvent pauci-bacillaires chez lesquelles un test plus sensible que la microscopie est recommandé

3. Délai d'exécution des tests pour le diagnostic de la TB

Test	Délai d'exécution
Microscopie (ZN et FM)	1 jour (frottis positif) 2 jours (frottis négatif)
Xpert MTB/RIF	24 heures
Culture liquide (MGIT)	Dès que disponible, en moyenne de 8 à 10 jours (échantillon positif) 6 semaines (échantillon négatif)
LPA 1 ^{ère} et 2 ^{ème} ligne	48 heures
TDS phénotypique	2 mois (1-3 semaines après obtention de la culture positive)

4. Collecte des expectorations pour le diagnostic de la tuberculose

Les expectorations sont les prélèvements le plus communément utilisés pour le diagnostic de la tuberculose. C'est au moment où les cas présumés de tuberculose toussent que le risque de contamination est le plus élevé. En conséquent, les échantillons d'expectoration doivent être prélevés à l'air libre et aussi loin que possible des autres personnes. A défaut, on devrait utiliser un local séparé, bien ventilé, réservé à cet effet.

Le PNLT recommande que la collecte des expectorations soit réalisée selon les calendriers suivants pour la TB sensible et la TB RR/MR respectivement :

Collecte des expectorations pour le dépistage et le suivi de la TB sensible	
Dépistage	<ul style="list-style-type: none">• 2 prélèvements• Première expectoration collectée sur place• Seconde expectoration collectée à domicile, le matin au réveil
Suivi	<ul style="list-style-type: none">• 1 prélèvement• Expectoration collectée au domicile, le matin• À M2, M5 et M6

Collecte des expectorations pour le dépistage et le suivi de la TB RR/MR	
Dépistage	<ul style="list-style-type: none"> • 2 prélèvements • Expectoration collectée sur place • Une expectoration utilisée pour le test Xpert MTB/RIF (au Pôle Xpert) • Une expectoration utilisée pour la culture et le TDS moléculaire ou phénotypique (au LNR/CERMEL)
Suivi (phase intensive)	<ul style="list-style-type: none"> • 1 prélèvement • Expectoration collectée de préférence le matin • Expectoration utilisée pour la microscopie et la culture (au LNR/CERMEL) • Une fois par mois
Suivi (phase de continuation)	<ul style="list-style-type: none"> • 1 prélèvement • Expectoration collectée de préférence le matin • Expectoration utilisée pour la microscopie et la culture (au LNR/CERMEL) • Une fois tous les 2 mois

4.1. Instructions concernant la collecte des expectorations :

La qualité des prélèvements est cruciale pour garantir la fiabilité des analyses de laboratoire. Il est important pour le personnel de santé d'assurer la supervision du recueil des expectorations. Les malades doivent en effet recevoir des instructions claires concernant la procédure de collecte des expectorations surtout lorsque cette dernière ne se déroule pas dans la structure de santé afin d'assurer l'intégrité des prélèvements. Les agents de santé devront par conséquent s'assurer que le malade a bien lu et compris les instructions fournies dans la fiche d'information au patient (cf annexe) dont une copie lui sera remise. Ces instructions devront également être affichées dans les CT et CDT.

4.2. Qualité des prélèvements :

Les prélèvements doivent être collectés en quantité suffisante en fonction du test visé (voir section) et leur qualité doit être optimale pour assurer la fiabilité des analyses réalisées. En ce qui concerne les expectorations, les différents types de prélèvements et leurs caractéristiques sont présentés dans le tableau qui suit.

Types de prélèvement d'expectorations

Purulent



- Prélèvement jaune comme du pus
- ✓ Qualité appropriée pour le diagnostic de la TB

Muqueux



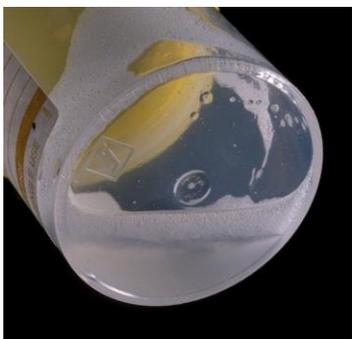
- Prélèvement avec mucus dominant
- ✓ Qualité appropriée pour le diagnostic de la TB

Sanguinolant



- Prélèvement contenant du sang
- ✓ Qualité appropriée pour le diagnostic de la TB

Salivaire



- Prélèvement constitué principalement de salive
- ✗ Qualité sous optimale pour le diagnostic de la TB

4.3. Identification des prélèvements :

Les expectorations, ou autres types de prélèvements utilisés pour le diagnostic de la TB, doivent être recueillis dans un pot étanche neuf avec couvercle à vis, large ouverture, en matière plastique transparente, incassable, facile à détruire par combustion tel qu'illustré ci bas.



Avant d'être remis au malade, le pot devra être correctement identifié avec les informations suivantes:

- nom de la structure de santé
- nom et prénom du patient
- date de prélèvement
- numéro de l'échantillon (ex : 1 ou 2)

Ces informations doivent être inscrites sur le corps du pot, **jamais sur le couvercle**, avec un marqueur ou un stylo indélébile.

4.4. Remplissage du formulaire de demande d'examen :

Une fois que malade a remis ses prélèvements à l'équipe de PEC, s'assurer que le couvercle du pot est bien fermé et vérifier que le prélèvement est correctement identifié. Remplir la première section du formulaire de demande d'examen (voir image ci-bas) en prenant soin de bien renseigner tous les champs.

République Gabonaise
Ministère de la Santé Publique
Programme National de Lutte contre la Tuberculose.



Demande d'examen d'échantillon biologique pour la tuberculose

Unité de traitement : _____ N° de Patient : _____ Date de la demande : _____
Nom du patient : _____ N° de CNAMGS : _____
Âge (années) : _____ Date de naissance : _____ Sexe : Masculin Féminin
Adresse du patient : _____
Localité : _____ Téléphone : _____

Raison de l'examen :
 Diagnostic. Si diagnostic : Présomption de TB sensible Présomption TB MR :
OU Suivi. Si suivi, mois du traitement : _____

Cas contact Oui Non Donnée inconnue
Infection à VIH Oui Non Donnée inconnue
Antécédent de traitement antituberculeux Oui Non Donnée inconnue
Si oui Précise ; Rechute Echec de traitement Echec de Retraitement Abandon de traitement

Type d'échantillon : Expectoration Autre (préciser) : _____
Test(s) demandé(s) : Microscopie Xpert MTB/RIF
 Culture Sensibilité aux médicaments

Demandé par (nom et signature) : _____

5. Système de référence des prélèvements pour le diagnostic de la tuberculose

5.1. Généralités

La Stratégie mondiale Fin à la tuberculose de l'OMS préconise le diagnostic précoce de la maladie, incluant le TDS universel, d'ici 2030. Ces objectifs ambitieux ne peuvent être atteints qu'en garantissant à tout malade l'accès aux nouveaux outils de diagnostics à tous les niveaux de la pyramide sanitaire, autant central que périphérique.

Un système efficace de référence permet l'accès élargi aux services de laboratoire TB sur tout le territoire : les patients sont capables de recevoir soins et traitement dans un centre CT ou CDT situé à proximité de leur domicile, tandis que leurs prélèvements sont au besoin transférés aux divers niveaux du réseau des laboratoires de TB selon la complexité des examens requis pour leur dépistage et leur suivi. Un tel système permet de minimiser les coûts associés aux soins pour les malades tuberculeux et leur famille et garanti à tous l'accès équitable aux services de PEC de la TB.

5.2. Circuit de transport

Pour tous les cas présumés de TB identifiés au niveau d'un service ou d'une formation sanitaire non impliquée dans le diagnostic de la TB, il s'agit d'acheminer 2 prélèvements à un CDT pour faire un examen de dépistage de la TB grâce à l'analyse des frottis d'expectoration par la microscopie.

En ce qui concerne les malades appartenant aux groupes cibles définis par le PNLT pour le dépistage de la TB-RR/MR, ou pour les cas présumés de TEP, le test Xpert MTB/RIF doit être utilisé comme examen de première intention (cf. : Algorithme Xpert MTB RIF en annexe). Ces malades, lorsqu'ils sont identifiés au niveau d'un CDT ou CT, devront fournir 2 prélèvements qui seront acheminés vers le Pôle diagnostic Xpert le plus proche, selon le circuit défini par les directives nationales. Le Pôle Xpert se chargera de faire parvenir 1 des 2 prélèvements au LNR/CERMEL pour la culture, le LPA de 2^d ligne ainsi que le TDS phénotypique si indiqué.

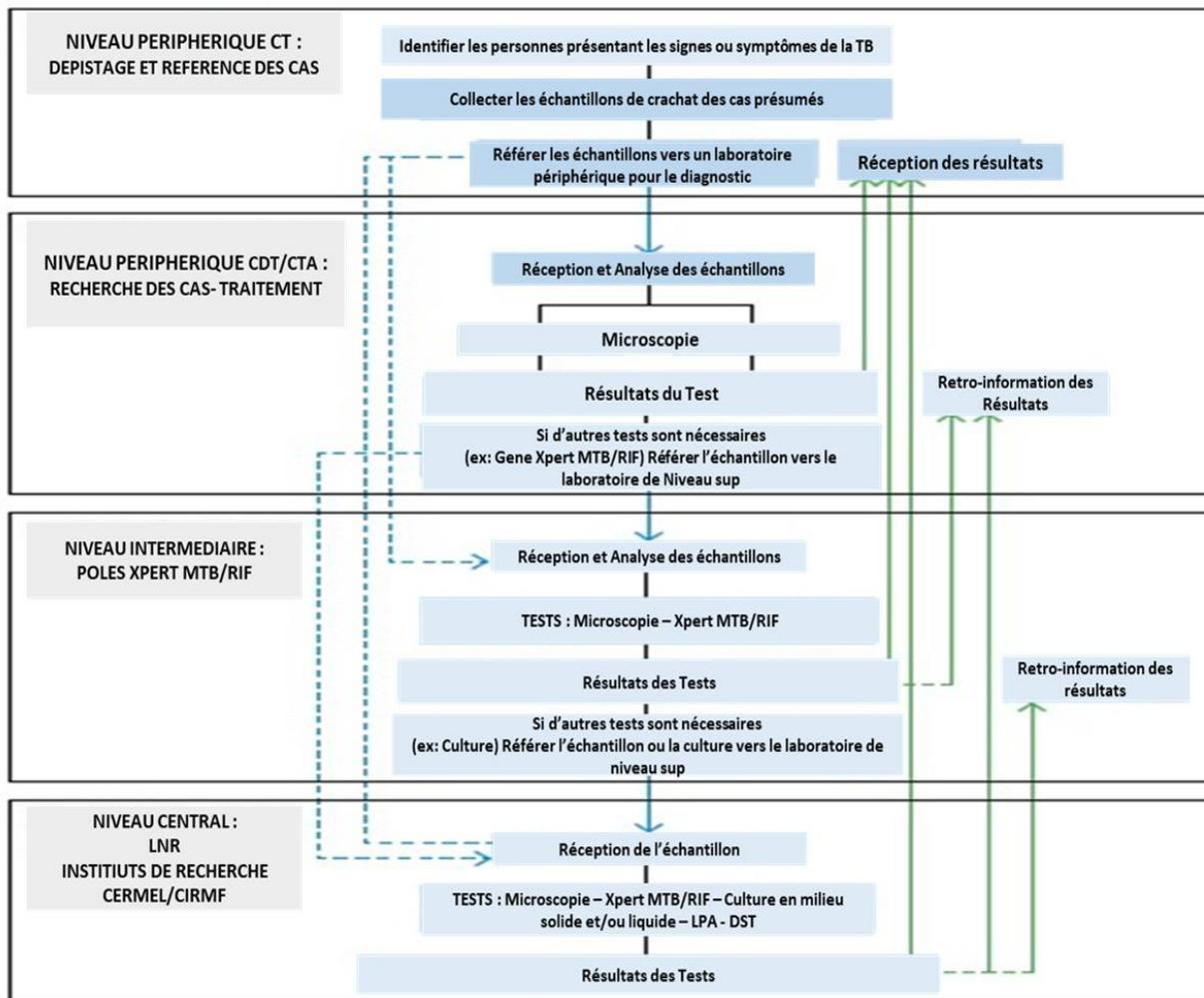


Schéma simplifié du circuit de transport des échantillons pour le diagnostic et le suivi de la TB/TB-MR

5.2.1. Moyens de transport :

Selon la situation, la structure pourra utiliser ses moyens de transport propres (ex : ambulance) ou, à défaut, un contrat sera signé avec un transporteur privé après consultation avec le PNLT.

5.2.2. Fréquence d'envoi :

Les envois de prélèvements seront réalisés au minimum une fois par semaine, de préférence en début ou en milieu de semaine. Les envois en fin de semaine (le vendredi) seront évités ou au besoin pour les cas particuliers urgents.

5.3. Emballage

L'expédition des échantillons constitue un risque de santé publique, et l'expéditeur est responsable de s'assurer que les échantillons sont emballés en toute sécurité.

Un système de **triple emballage** de l'échantillon doit être appliqué conformément aux recommandations internationales.

D'autre part, des envois de prélèvements diagnostiques primaires (expectorations) ou cultures pourront être réalisés par voie aérienne, conformément à la réglementation **IATA**, vers le LSN ou autre partenaires pour, par exemple, l'évaluation externe de qualité.

Principes du triple emballage des échantillons biologiques :



(Source image : GLI)

Le premier emballage ou **emballage primaire** (un pot en plastique ou polypropylène est recommandé) doit :

- Comporter une ouverture large
- Comporter un bouchon à vis et une étanchéité aux fuites
- Être positionné dans un deuxième emballage en position verticale.
- Avoir une capacité de 30 à 50 ml



Le deuxième emballage ou **emballage secondaire** doit être un sac plastique étanche à fermeture hermétique.

Le pot de l'échantillon sera transféré dans l'emballage secondaire avec un tissu absorbant ou du coton en quantité suffisante afin d'absorber son contenu en cas de fuite



(Source image : GLI)

Le troisième emballage ou **emballage tertiaire** doit être résistant aux chocs (une glacière peut être utilisée).

Le symbole de danger biologique devra être apposé sur l'emballage tertiaire.

5.4. Documentation

Un inventaire complet devra accompagner chaque envoi de prélèvement (voir annexe : Fiche de transmission des échantillons diagnostiques). Ceci constitue une occasion pour le personnel de la structure d'origine de vérifier une dernière fois :

- La complétude des informations sur les pots de prélèvements
- La complétude des informations sur les demandes d'examen
- L'étanchéité des pots (couvercle bien visé)
- L'adéquation des identifiants entre les pots de prélèvements et les formulaires de demande d'examen
- L'adéquation entre le nombre de pots de prélèvements et le nombre de formulaires de demande d'examen transmis.

Afin d'assurer la confidentialité des malades, les fiches de demande d'examen ainsi que la fiche de transport, une fois complétée et signée par le transporteur, lui seront remises **sous pli cacheté** (dans une enveloppe à part, pas emballée avec les échantillons).

Lorsque nécessaire (voir section 7 : exigences techniques pour la référence des échantillons diagnostiques) le laboratoire sera contacté par téléphone pour information préalablement à l'envoi des échantillons.

5.5. Formation

Toutes les personnes impliquées dans le transport des échantillons (prestataires de soin, techniciens de laboratoire, transporteurs) devront recevoir une formation sur les modes de transmission de la TB et les signes et symptômes de la maladie ainsi que sur les directives relatives au transport des prélèvements diagnostiques TB, les précautions à prendre pour éviter les expositions accidentelles et pour gérer les déversements accidentels.

6. Exigences techniques pour la références des échantillons diagnostiques

6.1. Référence des échantillons pour la microscopie



Communément, les expectorations constituent le type d'échantillons utilisés pour la microscopie (dépistage et suivi du traitement de la TB sensible; suivi du traitement de la TB-MR/UR).

Expectorations	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none">• Volume minimal requis: 1 ml (microscopie directe)• Recueillir le prélèvement dans un pot propre, avec couvercle (étanche) et à ouverture large• Si délai de transport de plus de 1 heure, les prélèvements doivent être conservés à 2-8°C
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none">• Les échantillons fraîchement prélevés peuvent être transportés à température ambiante (20-30°C) si la livraison au laboratoire qui effectuera le test est prévue le même jour.• Les échantillons réfrigérés doivent être livrés au plus tard dans les 7 jours suivant le prélèvement.• Dans tous les cas le transport dans une glacière réfrigérée à 2-8°C est préférable pour protéger les prélèvements contre les variations de températures extrêmes.
Documentation	<ul style="list-style-type: none">• Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement).• Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.

6.2. Référence des échantillons pour le test Xpert MTB/RIF



La viabilité des bacilles n'a pas d'impact sur le résultat final du test Xpert MTB/RIF. Toutefois, la stabilité des acides nucléiques est un facteur important à considérer.

Les directives applicables à la référence des prélèvements autres que les expectorations (ex : lavage broncho-alvéolaire, aspiration gastrique, tissus ganglionnaires et liquide céphalo-rachidien) pour le test Xpert MTB/RIF sont couvertes dans la section "référence des prélèvements pour la culture".

Si des prélèvements doivent être utilisés à la fois pour la culture et pour le test Xpert MTB/RIF, on se réfère aux directives incluses la section "référence des prélèvements pour la culture"

Expectorations	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none">• Volume minimal requis: 1 ml, mais 2 à 4 ml est préférable• Recueillir le prélèvement dans un pot propre, avec couvercle (étanche) et à ouverture large• Si délai de transport de plus de 1 hr, les prélèvements doivent être conservés à 2-8 °C.• En absence de frigo, les prélèvements pourront être conservés à température ambiante (jusqu'à 35 C) pendant 3 jours maximum, mais par la suite ils devront être réfrigérés.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none">• Les spécimens doivent être livrés au plus tard dans les 10 jours suivant le prélèvement.• Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none">• Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement).• Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.

6.3. Référence des échantillons pour la culture



Les éléments les plus importants à considérer pour la conservation et l'expédition des prélèvements destinés à la culture sont :

- La sécurité biologique
- La nécessité de garantir la viabilité des mycobactéries
- La nécessité d'inhiber la croissance de la flore (bactérienne) contaminante.

Il existe peu d'informations relatives à la survie des mycobactéries dans les prélèvements autres que les expectorations, en conséquent, il est recommandé que le transport des échantillons de lavage broncho-alvéolaire et de fluide cérébrospinal, les aspirations gastriques, et les biopsies se fasse dans les meilleurs délais (le jour même de la collecte).

Particulièrement, les plus grandes précautions devront prises à la fois par la structure de PEC (conservation et envoi des échantillons à la bonne température) et par le laboratoire de référence (réalisation du test dès la réception) pour assurer la pertinence et la qualité des analyses demandées sur des prélèvements invasifs tels que les biopsies et le fluide cérébrospinal.

Expectorations	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none"> • Volume minimal requis: 3 à 5 ml • Recueillir le prélèvement dans un pot stérile, avec couvercle (étanche) et à ouverture large • Si délai de transport de plus de 1 hr, les prélèvements doivent être conservés à 2-8 °C.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons fraîchement prélevés peuvent être transportés à température ambiante (20-30°C) si la livraison au laboratoire qui effectuera le test est prévue dans l'heure qui suit. • Les échantillons réfrigérés doivent être livrés au plus tard dans les 7 jours suivant le prélèvement et, si possible, avant 3 jours. • Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none"> • Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement). • Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.

Lavage broncho-alvéolaire	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none"> • Volume minimal requis: 20 ml • Recueillir le prélèvement dans un pot stérile, avec couvercle (étanche) et à ouverture large • Si délai de transport de plus de 1 heure, les prélèvements doivent être conservés à 2-8 °C.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons doivent être livrés dans les 24hr suivant le prélèvement et, si possible, le jour même. • Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none"> • Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement). • Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.
Remarque	<ul style="list-style-type: none"> • Veiller à communiquer à l'avance et coordonner le transport avec le laboratoire afin de minimiser autant que possible le délai entre le prélèvement et la mise en culture.

Aspiration gastrique	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none"> • Volume minimal requis: 5 à 10 ml, maximum de 15 ml • Recueillir le prélèvement dans un pot stérile, avec couvercle (étanche) et à ouverture large • Si délai de transport de plus de 1 heure, neutraliser avec 100 mg de sodium de carbonate, bien mélanger et conserver à 2-8 °C.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons doivent être livrés dans les 24hr suivant le prélèvement et, si possible, le jour même. • Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none"> • Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement). • Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.
Remarque	<ul style="list-style-type: none"> • Veiller à communiquer à l'avance et coordonner le transport avec le laboratoire afin de minimiser autant que possible le délai entre le prélèvement et la mise en culture.

Liquide céphalo-rachidien	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none"> • Volume optimal: 10 ml, volume minimal : 2 ml. De plus petits volumes sont acceptable pour des malades pédiatriques. • Recueillir le prélèvement dans un pot stérile, avec couvercle (étanche) et à ouverture large • Conserver à température ambiante (20-30°C). Ne pas réfrigérer.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons doivent être livrés dans les 24hr suivant le prélèvement et, si possible, le jour même. • Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none"> • Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement). • Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.
Remarque	<ul style="list-style-type: none"> • Veiller à communiquer à l'avance et coordonner le transport avec le laboratoire afin de minimiser autant que possible le délai entre le prélèvement et la mise en culture.

Tissus ganglionnaires et autres tissus	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none"> • Autant que possible, suspendre dans 2 à 3 ml de solution saline. • Recueillir le prélèvement dans un pot stérile, avec couvercle (étanche). • Ne pas utiliser de réactif de fixation ou de préservation. • Conserver à température ambiante (20-30°C). Ne pas réfrigérer.
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none"> • Les échantillons doivent être livrés dans les 24hr suivant le prélèvement et, si possible, le jour même. • Le transport se fera dans une glacière réfrigérée à 2-8°C.
Documentation	<ul style="list-style-type: none"> • Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement). • Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.
Remarque	<ul style="list-style-type: none"> • Veiller à communiquer à l'avance et coordonner le transport avec le laboratoire afin de minimiser autant que possible le délai entre le prélèvement et la mise en culture. • <i>L'homogénéisation des spécimens pouvant générer la production d'aérosols infectieux, leur manipulation requiert des équipements de confinement biologique appropriés (poste de sécurité biologique certifié). Ces prélèvements devront préférentiellement être envoyés vers le laboratoire national de référence (CERMEL) même si uniquement le test Xpert MTB/RIF est demandé.</i>

6.4. Référence des échantillons pour le TDS



Les TDS phénotypique ou moléculaire (ex : LPA) indirects sont réalisés à partir d'isolats obtenus suite à la culture de prélèvements primaires (ex. expectorations) sur milieu solide ou en milieu liquide (MIGT). Les directives applicables à l'expédition de ces isolats, nécessaire notamment dans le cadre des activités d'assurance qualité réalisées sous la supervision du laboratoire supranational, sont décrites ci bas.

En ce qui concerne le transport des prélèvements primaires (ex. expectorations) pour les TDS phénotypique ou moléculaire (ex : LPA) directs, on se réfère aux directives présentées à la section "référence des prélèvements pour la culture".

Culture (milieu liquide ou solide)	
Collecte et conservation	<ul style="list-style-type: none">• Les cultures fraîches doivent être expédiées dès la phase active de croissance.• Si nécessaire conserver à 2-8°C
Emballage et transport	<ul style="list-style-type: none">• Les échantillons doivent être expédiés rapidement, les mycobactéries viables étant plus aisées à récupérer à partir de cultures fraîches.• L'emballage devra être conforme à la réglementation internationale (voir remarque plus bas)• Le transport se fera à température ambiante, en protégeant les échantillons contre les températures extrêmes.
Documentation	<ul style="list-style-type: none">• Une fiche de demande d'examen doit être jointe à chaque prélèvement (1 fiche/ prélèvement).• Une fiche de transmission des échantillons sera jointe à chaque envoi (1 fiche/ envoi), comportant l'inventaire de tous les prélèvements inclus dans l'envoi.
Remarque	<ul style="list-style-type: none">• IATA•

7. Réception des échantillons

À leur réception, les échantillons seront inspectés pour s'assurer de leur intégrité et de la complétude des informations relatives au patient avant d'être enregistrés dans le registre de réception du laboratoire. Pour garantir la fiabilité des tests de diagnostic réalisés, le laboratoire rejettera les échantillons non conformes en fonction des critères suivants :

Critères de rejet des échantillons pour le diagnostic de la TB

- Identifiant absent ou incomplet
- Pot mal visé et/ou ayant coulé
- Discordance entre les informations indiquées sur le pot et la fiche de demande d'examen.
- Échantillon non accompagné par une fiche de demande d'examen.
- Échantillon prélevé dans un pot inapproprié (bouteilles antibiotiques, bouteille à col étroit etc.)
- Mauvaise qualité de l'échantillon (ex : échantillon salivaire)
- Volume de l'échantillon est trop faible (< 0.5ml) ou le pot vide.
- Type d'échantillon inadéquat pour le test demandé

Dans le cas où l'échantillon est rejeté, le laboratoire notifiera le médecin traitant par téléphone, Email ou autre moyen et demandera un nouveau prélèvement dans les meilleurs délais.

8. Rapportage des résultats et rétro-information

8.1 Rapportage des résultats sur la demande d'examen

Après analyse des échantillons, les résultats définitifs seront reportés sur le registre de tuberculose du laboratoire et sur le bon de demande d'examen du patient, dans la partie réservée (cf. formulaire en annexe). Toutes les informations demandées doivent être mentionnées lisiblement et proprement. Les résultats positifs doivent être écrits au stylo rouge.

8.2 Interprétation du résultat

Après analyse des échantillons, le compte rendu devra comporter l'interprétation de chaque type d'examen réalisés (bactériologiques et/ou moléculaire) par le personnel de laboratoire afin d'orienter le médecin prescripteur dans la prise de décision clinique.

8.3 Validation des résultats

Toutes les fiches de résultats doivent être soumises à la signature du responsable du laboratoire ou son délégué avant que les résultats définitifs soient enregistrés dans le registre de tuberculose du laboratoire et une copie des fiches renvoyées vers le médecin traitant. Les fiches originales constituent la documentation source du laboratoire et demeureront archivées sur place.

8.4 Remise des résultats

Les résultats d'examen seront envoyés prioritairement au médecin traitant dès que disponibles, par Email, coursier ou autre moyen possible. Si des analyses multiples ont été demandées sur le même échantillon (microscopie, Xpert MTB/RIF, culture et DST), les résultats seront envoyés au demandeur au fur et à mesure qu'ils seront disponibles (voir délai d'exécution des examens page 8).

Si l'expectoration a été référée à partir d'une autre unité de santé, les résultats seront adressés à cette unité ; le patient recevra une copie de son résultat. Les résultats ne doivent jamais être remis seulement au patient à cause du risque de perte de vue.

La remise des résultats sera enregistrée dans un cahier de sortie signé par la personne qui les aura récupérés (ex : coursier, infirmier, etc.). Les résultats ne sont pas transmis par téléphone, exception faite des résultats critiques des cas de TB RR/MR et TB/UR.

8.5 Résultats critiques

Les résultats urgents lors du diagnostic de tuberculose concernent les cas TB RR/MR et TB/UR (cas positif et résultat du TDS moléculaire et/ou phénotypique). Ils doivent être notifiés immédiatement au médecin référent et au point focal TB-MR du PNLT par téléphone ou email afin de permettre une mise en route ou l'ajustement rapide du traitement, conformément aux directives nationales et recommandations internationales.

9. Suivi et évaluation

Indicateurs de suivi des systèmes de transport des prélèvements

Indicateurs de suivi au niveau de la structure de santé référente	Calcul	Fréquence
Indicateur 1,1 Nombre de prélèvements référés et nombre d'envois réalisés	Nb de prélèvements Nb d'envois	Mensuelle
Indicateur 1,2 Proportion des prélèvements référés pour lesquels un résultat a été retourné	Numérateur : Nb de prélèvements référés avec un résultat disponible Dénominateur : Nb total de prélèvements référés	Mensuelle
Indicateur 1,3 Proportion de prélèvements ramassés par le service de transport dans le délai ciblé	Numérateur : Nb de prélèvements ramassés par le service de transport dans le délai ciblé (après collecte) Dénominateur : Nb total de prélèvements ramassés par le service de transport	Mensuelle
Indicateurs de suivi au niveau du laboratoire de référence		
Indicateur 2,1 Nombre de prélèvements référés testés au laboratoire de référence	Numérateur : Nb de prélèvements référés testés Dénominateur : Nb total de prélèvements référés	Mensuelle
Indicateur 2,2 Proportion d'envois qui arrivent au laboratoire de référence dans le délai de transport spécifié	Numérateur : Nb d'envois arrivant au laboratoire de référence dans le délai de transport spécifié Dénominateur : Nb total d'envoi réalisés	Mensuelle
Indicateur 2,3 Proportion des résultats des tests qui ont été ramassés par le service de transport transmis par voie électronique dans le délai d'exécution spécifié après génération du résultat du test	Numérateur : Nb d'envois livrés dans les délais de transport spécifié Dénominateur : Nb total d'envoi réalisés	Mensuelle
Indicateur 2,4 Proportion de prélèvements rejetés	Numérateur : Nb de prélèvements rejetés Dénominateur : Nb total de prélèvements transportés par le biais du réseau	Mensuelle
Indicateurs de suivi au niveau de la société de transport (dans le cadre d'un contrat de service)		
Indicateur 3,1 Nombre d'envoi réalisés et nombre de prélèvements transportés	Nb d'envoi réalisés Nb de prélèvements transportés	Mensuelle
Indicateur 3,2 Proportion des envois livrés dans les délais de transport spécifié	Numérateur : Nb d'envois livrés dans les délais de transport spécifié Dénominateur : Nb total d'envoi réalisés	Mensuelle
Indicateur 3,3 Proportion des envois perdus ou endommagés	Numérateur : Nb d'envois perdus ou endommagés Dénominateur : Nb total d'envoi réalisés	Mensuelle
Indicateurs à surveiller au niveau régional ou national par le groupe de travail technique ou le Ministère de la santé		
Indicateur 4,1 Nombre de sites de référents participant au réseau de transport de prélèvements	Nb de sites participant au réseau de transport	Annuelle

10. Références Bibliographiques

- GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening, GLI, 2017
- GLI Guide to TB Specimen Referral Systems and Integrated Networks, GLI, 2017
- ISO Standard 15189:2012; Laboratoire de Biologie Médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence.
- Lumb R, Van Deun A, Bastian I, Fitz-Gerald M. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy: the Handbook Global Edition, SA Pathology, 2013
- OMS, Manuel de sécurité biologique en laboratoire. – 3e éd., 2005
- OMS, Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose, 2013
- Treatment Action Group, An Activist's Guide to Tuberculosis Diagnostic Tools, 2017
- TB Laboratory Quality Management Systems Towards Accreditation Harmonized Checklist, version 2.1, Février 2016
- GLI Guide to TB Specimen Referral Systems and Integrated Networks, page 68-74

Annexes

Page	Annexes
27	Contacts importants
29	Algorithme Xpert MTB/RIF
30	Aide-mémoire : Calendrier de réalisation des tests diagnostiques lors du dépistage et du suivi de la TB-MR
31	Fiche d'information au patient pour le recueil des expectorations
32	Fiche de demande d'examen
33	Fiche de transmission des échantillons
35	Sigle de danger biologique

Contacts importants (1)

PNLT :

Service	Personne	Contact
Point focal TB-MR	Dr Patrice Dapnet Tadasin	
Service laboratoire	Mme Nina Mbenga Roguet	
Point focal système de référence	Mme Nina Mbenga Roguet	

LNR et Pôles Xpert :

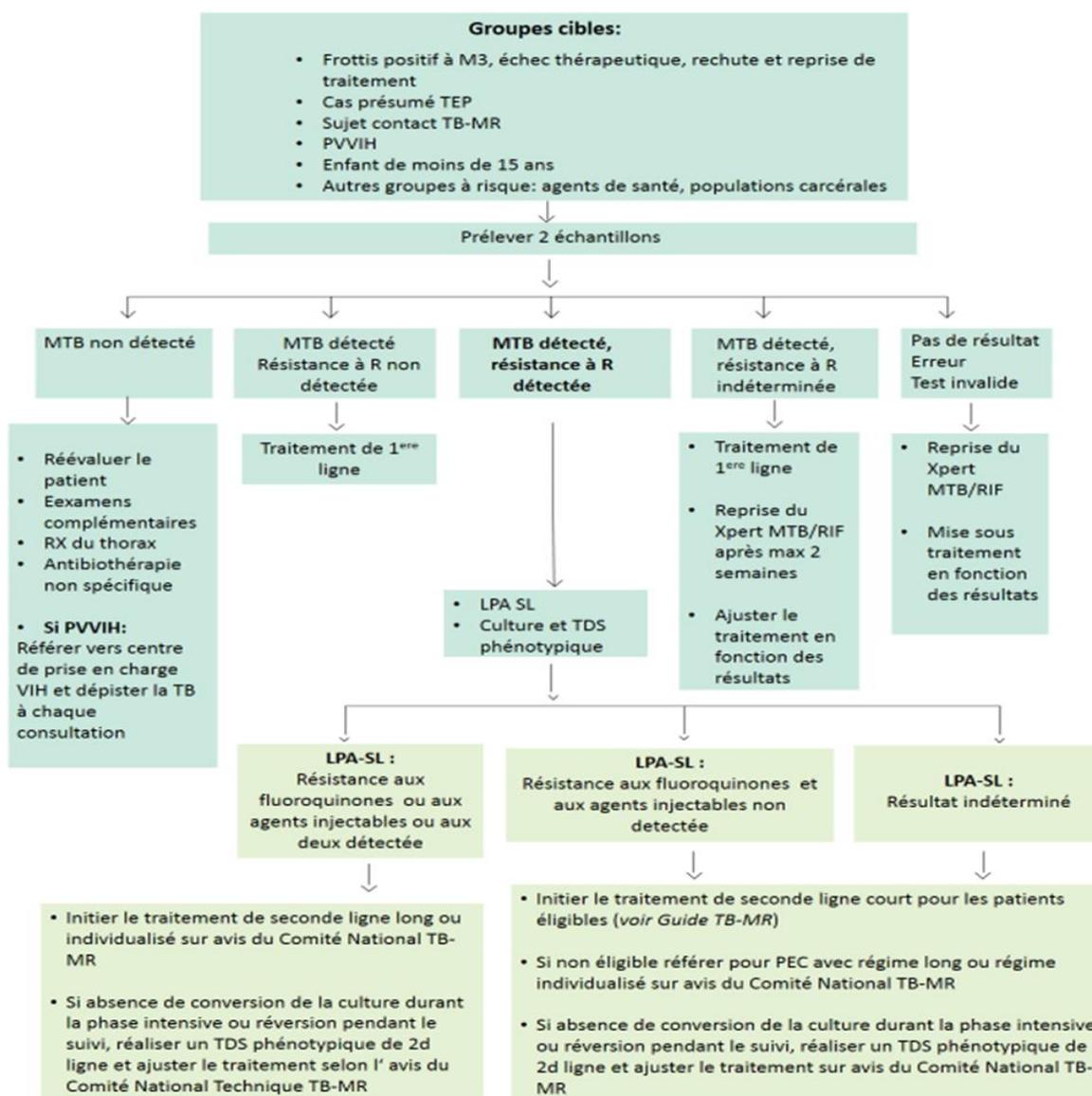
Structure	Contact /personne resource	Localité	Date prévue de mise en fonction
Pôle CERMEL/LNR	Dr Abraham Alabi	Lambaréné	• Opérationnel
Pôle LNSP	Dr Krystina Ngou Milama	Libreville	• Opérationnel
Pôle BONGOLO	Mr Siko Babemba	Lébamba	• Opérationnel
Pôle CHR Amissa	Mr ETELE Tiburce	Franceville	• Opérationnel
Pôle CHR Oyem	Mr OWONO OKEMVELE Kévin Aristide	Oyem	• Opérationnel
Pôle CHR Makokou	A pourvoir	Makokou	• 2019
Pôle CHR Tchenguët	A pourvoir	Port-Gentil	• 2019
Pôle CHR Koula- Moutou	A pourvoir	Koula-Moutou	• 2020
Pôle CHR Tchibanga	A pourvoir	Tchibanga	• 2020

Contacts importants (2)

Centres de diagnostic et de traitement (CDT) :

REGION SANITAIRE	STRUCTURE SANITAIRE	LOCALITES
LIBREVILLE OWENDO	HS Nkembo (Laboratoire)	Libreville
	H.I.A.O.B.O	Libreville
	CS OKALA	Libreville (Akanda)
	CHUL	Libreville
	Prison Central de Libreville	Libreville
	Centre de Santé Nzeng Ayong	Libreville
	Centre de Santé Communautaire d'Owendo (CSCO)	Owendo
OUEST	HRE Melen	Libreville (PK12)
	CM NTOUM	Ntoum
SUD-EST	BELE 02 / CHR Amissa	Franceville
	Centre Médical d'Okondja	Okondja
CENTRE SUD	BELE 04 / CHR	Mouila
	HE Bongolo	Lebamba
SUD	BELE 05 / CHR	Tchibanga
	Centre Médical de Mayumba	Mayumba
EST	BELE 06 / CHR	Makokou
	Centre Médical de Mekambo	Mekambo
CENTRE-EST	Centre de Santé Urbain	Koula-Moutou
	CHR Paul Moukambi	Koula-Moutou
	Centre Médical de Lastourville	Lastourville
MARITIME	BELE 08 /CHR	Port-Gentil
	CM Gamba	Gamba
NORD	BELE 09 / CHR	Oyem
	Centre Médical de Bitam	Bitam

Algorithme Xpert MTB/RIF



- Le test Xpert MTB/RIF est réalisé pour le dépistage uniquement.
- Pour les cas présumés de TB pulmonaire, l'expectoration est l'échantillon de choix pour le Xpert MTB/RIF et le LPA-SL. Le liquide du lavage gastrique ou broncho-alvéolaire et de l'aspiration gastrique peuvent aussi être utilisés pour le Xpert MTB/RIF.
- Pour les cas présumés de TB extra pulmonaire, le liquide céphalorachidien ou les tissus ganglionnaires peuvent être utilisés pour le Xpert MTB/RIF.

AIDE-MÉMOIRE

Calendrier de réalisation des tests diagnostiques lors du dépistage et du suivi de la TB-MR

Test	Dépistage	Phase intensive	Phase de continuation
Microscopie 		1 fois par mois	1 fois tous les 2 mois
Xpert MTB/RIF 	x	Non indiqué	Non indiqué
LPA (1^{ère} et 2^d ligne) 	x	Non indiqué	Non indiqué
Culture 	x	x 1 fois par mois	x 1 fois tous les 2 mois
TDS phénotypique 	x	x Au besoin (suspicion d'échec thérapeutique)	x Au besoin (suspicion d'échec thérapeutique)

Comment recueillir des expectorations pour dépister la tuberculose

Qu'est-ce que la tuberculose ?

La tuberculose est une maladie grave causée par les bacilles de Koch. Ces germes se propagent dans l'air quand une personne atteinte de tuberculose contagieuse tousse, éternue, chante ou parle. La tuberculose affecte souvent les poumons.

La tuberculose se guérit, à condition de se rendre tôt à l'hôpital pour le dépistage et de bien suivre les conseils du personnel de santé jusqu'à la fin du traitement. Les médicaments sont fournis gratuitement par le Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT) aux centres de prise en charge pour les malades.

****La meilleure façon de savoir si on est atteint de tuberculose est de faire un examen de laboratoire****

Qu'est-ce qu'une expectoration ?

L'expectoration est également appelée crachat, mais il ne s'agit pas des crachats de salive. La salive vient de la bouche et est fluide, claire et liquide. Les crachats expectorés sont des sécrétions expulsées de l'intérieur des poumons par la toux. Ces expectorations sont épaisses, troubles et visqueuses.

Pourquoi le test de dépistage de la tuberculose est-il basé sur les expectorations ?

Votre médecin a besoin des expectorations pour dépister la présence éventuelle des germes tuberculeux responsables de la maladie. L'analyse des expectorations est la meilleure façon de savoir si vous êtes atteint(e) de la tuberculose.

Si vous prenez le traitement contre la tuberculose, l'analyse de vos expectorations est aussi le meilleur moyen de déterminer si les médicaments agissent efficacement.

Comment recueillir des expectorations ?

1. Dès le réveil, avant de manger, de boire ou de se brosser les dents, se rincer la bouche à l'eau claire.
2. Utiliser le flacon d'échantillon indiquant votre prénom, nom et date de naissance fourni par le personnel soignant.
3. S'éloigner des autres personnes avant de recueillir les expectorations pour les protéger des germes tuberculeux propagés par la toux.
4. Recueillir les expectorations dehors ou devant une fenêtre ouverte.
5. Ouvrir le flacon à échantillon. Ne pas toucher l'intérieur du flacon, ni du bouchon.
6. Inspirer profondément. Poumons pleins, retenir son souffle pendant quelques secondes. Expirer lentement. Inspirer de nouveau profondément. Toussez avec force jusqu'à produire des expectorations.
7. Cracher les expectorations dans le flacon à échantillon.
8. Répéter l'opération jusqu'à ce que le fond du flacon soit couvert de mucosités.
9. Fermer le flacon en vissant bien le bouchon pour éviter les fuites.
10. Prendre en note la date et l'heure du prélèvement.
11. Placer le flacon dans un sachet en plastique étanche et fermer le sachet.
12. Après avoir terminé le prélèvement, se laver les mains.
13. Si cela s'avère nécessaire, vous pouvez conserver le flacon jusqu'au lendemain. De préférence, le mettre au frigo, **mais ne pas le congeler.**



Demande d'examen d'échantillon biologique pour la tuberculose

Unité de traitement : _____ N° de Patient : _____ Date de la demande : _____

Nom du patient : _____ N° de CNAMGS : _____

Âge (années) : _____ Date de naissance : _____ Sexe : Masculin Féminin

Adresse du patient : _____

Localité : _____ Téléphone : _____

Raison de l'examen :

Diagnostic. Si diagnostic : Présomption de TB sensible Présomption TB MR :

OU Suivi. Si suivi, mois du traitement : _____

Cas contact Oui Non Donnée inconnue

Infection à VIH Oui Non Donnée inconnue

Antécédent de traitement antituberculeux Oui Non Donnée inconnue

Si oui Précise ; Rechute Echec de traitement Echec de Retraitement Abandon de traitement

Type d'échantillon : Expectoration Autre (préciser) : _____

Test(s) demandé(s): Microscopie Xpert MTB/RIF
 Culture Sensibilité aux médicaments

Demandé par (nom et signature) : _____

Numéro de Laboratoire : _____

Résultats de la microscopie (à remplir par le laboratoire)

Date de collecte (à compléter par le demandeur)	Qualité de l'échantillon	Résultat (cocher)				
		Négatif (0BAAR/ 100HPF)	1-9/100 HPF rares; indiquer le nombre de BAAR	+ (10-99 BAAR/ 100HPF)	++ (1-10 BAAR/ HPF)	+++ (>10 BAAR/ HPF)
INTERPRÉTATION :						

Date: ___/___/20___ Analysé par: _____ Signature: _____

Date: ___/___/20___ Heure : ___/hh/___/mn. Revu /validé par (Nom) : _____ Signature : _____



FICHE DE TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

STRUCTURE D'ENVOI (CT/CDT) _____ DATE D'ENVOI ____/____/____

NOM, PRENOM ET SIGNATURE _____

STRUCTURE DESTINATAIRE (CDT ; PÔLE XERT ; LNR) : _____

NOM DU TRANSPORTEUR /AGENCE DE TRANSPORT : _____

TELEPHONE DU TRANSPORTEUR : _____

SIGNATURE DU TRANSPORTEUR : _____

N°	NOM ET PRENOM	DATE PRELEVEMENT	NOMBRE DE POTS/FROTTIS	COMMENTAIRES
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

STRUCTURE DE RECEPTION _____

DATE RECEPTION ____/____/____

NOM, PRENOM ET SIGNATURE _____

Sigle de danger biologique pour emballage tertiaire :

