

# PRÉLÈVEMENT DE SANG PAR PIQÛRE AU DOIGT ET PRÉPARATION DE GOUTTES ÉPAISSES ET DE FROTTIS MINCES

## DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE DU PALUDISME MODES OPÉRATOIRES NORMALISÉS – DMP-MON-05A

### 1. OBJECTIF ET CHAMP D'ACTION

Fournir une description détaillée de la procédure à suivre pour le prélèvement d'un échantillon sanguin par piqûre au doigt et la préparation de gouttes épaisses et de frottis minces pour le diagnostic du paludisme par microscopie optique.

Cette procédure ne peut être modifiée qu'avec l'approbation du coordonnateur national pour l'assurance de la qualité du diagnostic microscopique du paludisme. Toutes les procédures exposées ici sont obligatoires pour tous les techniciens de la microscopie travaillant dans les laboratoires nationaux de référence, dans les laboratoires des hôpitaux ou dans les laboratoires médicaux de base au sein des établissements sanitaires où sont effectués des examens microscopiques pour le diagnostic du paludisme.

### 2. HISTORIQUE

L'observation des étalements de sang par examen microscopique est une technique de base et demeure toujours la référence absolue en matière de diagnostic du paludisme. Le sang capillaire, que l'on prélève au bout du doigt, est idéal pour la préparation d'étalements de sang pour le diagnostic du paludisme. Des étalements de sang de qualité sont indispensables pour pouvoir poser un diagnostic correct.

### 3. FOURNITURES ET ÉQUIPEMENTS

- Des lames de verre propres de 25 x 75 mm, avec une extrémité en verre dépoli permettant l'étiquetage, de préférence comportant des bords rodés et de bonne qualité (voir DMPMON-01 : Nettoyage et stockage des lames de microscope).
- De l'alcool éthylique à 70% ou des tampons d'alcool.
- Des lancettes stériles, une par patient.
- Du coton hydrophile (tampon d'ouate ou de gaze, coton-tige).
- Des gants de protection en latex (sans talc).
- Un contenant biorisque ou tout autre collecteur d'aiguilles résistant aux perforations (voir DMP-MON 13 : Gestion des déchets issus de tests de diagnostic du paludisme).
- Un conteneur pour déchets infectieux (voir DMP-MON 13 : Gestion des déchets issus de tests de diagnostic du paludisme).
- Une boîte ou un plateau, ainsi qu'une housse pour le séchage des lames à l'horizontale, permettant de les protéger des mouches et de la poussière.
- Un râtelier de séchage.
- Des formulaires d'enregistrement (c'est-à-dire un registre pour le paludisme).
- Un crayon à mine ou un stylo indélébile.

#### 4. CONSIGNES DE SÉCURITÉ

- Pour votre sécurité et afin d'éviter les traces de graisse sur la lame pouvant entraver la préparation du frottis, enfiler des gants de protection en latex avant de prélever des échantillons sanguins et lorsque vous manipulez les lames. Portez des gants de protection pour manipuler du sang et retirez-les avant de quitter la zone où vous travaillez ou lorsque vous prenez des notes.
- Utilisez toujours une lancette neuve pour chaque patient. Ne remettez pas l'embout protecteur sur la lancette. Ne réutilisez **jamais** les lancettes.
- Évitez de vous mettre du sang, séché ou frais, sur les doigts ou les mains.
- Mettez un pansement étanche sur les coupures ou les écorchures de la main.
- Évitez de vous piquer accidentellement en manipulant des instruments tranchants qui ont été en contact avec du sang.
- Lavez-vous soigneusement les mains à l'eau et au savon dès que vous avez fini un travail.
- Si vous avez du sang sur la peau, essuyez-le rapidement avec un coton-tige imbibé d'alcool ; lavez ensuite dès que possible la zone touchée à l'eau et au savon.
- Le matériel tranchant, comme les lancettes ou le verre cassé, doit être jeté dans un collecteur d'aiguilles pour être éliminé en toute sécurité par incinération ou autoclavage. Le matériel qui n'est pas tranchant mais qui a été contaminé par du sang doit être jeté dans un bac couvert ou un sac autoclave, pour être éliminé en toute sécurité par incinération ou autoclavage.
- Prélevez les échantillons sanguins dans un endroit bien éclairé.

#### 5. PROCÉDURE


SCHÉMA	DESCRIPTION DE L'ACTIVITÉ	Illustration
<p data-bbox="177 1055 518 1323">1. Étiquetez la lame, inscrivez-y les informations concernant le patient, et consignez l'information dans le registre.</p> <p data-bbox="336 1339 359 1370">↓</p> <p data-bbox="177 1391 518 1693">2-3. Après avoir mis des gants de protection en latex, nettoyez le troisième doigt en partant du pouce avec de l'éthanol à 70 % ou un tampon d'alcool. Laissez le doigt sécher à l'air libre.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li data-bbox="603 1043 1082 1323">1. Placez une étiquette contenant les informations du patient sur l'extrémité en verre dépoli de la lame et consignez vos activités dans le formulaire d'enregistrement ou dans un registre pour le paludisme. Voir MON 06: Étiquetage des étalements de sang à la recherche du paludisme.</li> <li data-bbox="603 1339 1114 1559">2. En portant des gants de protection en latex, prenez le troisième doigt en partant du pouce sur la main non dominante du patient (ou le gros orteil chez les nourrissons, mais pas le talon). Il ne faut jamais prendre le pouce, ni chez l'adulte, ni chez l'enfant.</li> <li data-bbox="603 1574 1114 1946">3. Tenez la main du patient, paume tournée vers le haut et nettoyez le doigt avec un tampon de coton légèrement imbibé d'éthanol à 70 % ou un tampon d'alcool. Frottez vigoureusement pour enlever la graisse et la saleté de la pulpe du doigt et pour stimuler la circulation du sang. Si nécessaire, exercez de légères pressions sur le doigt pour le chauffer. Laissez sécher l'alcool présent sur le doigt.</li> </ol>	 <p>The illustration shows a close-up of a hand being held by another person. The hand being held is the patient's, and the other hand is the caregiver's. The caregiver is using their thumb to clean the third finger of the patient's hand. The patient's hand is held palm-up, and the caregiver's hand is positioned to clean the finger. The illustration is a simple line drawing.</p>






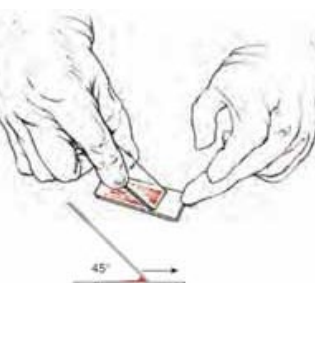
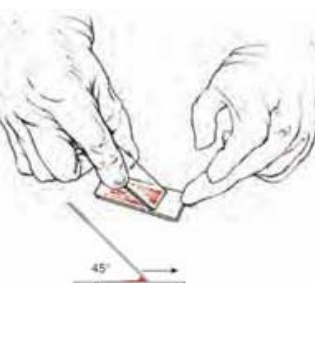
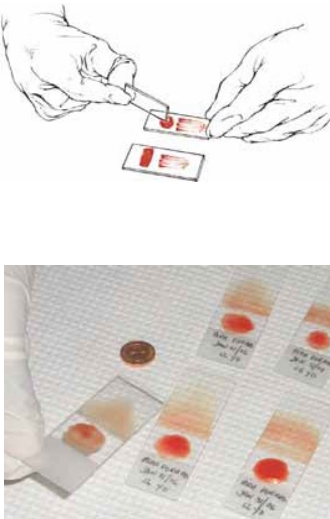
SCHÉMA	DESCRIPTION DE L'ACTIVITÉ	Illustration
<p style="text-align: center;">↓</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">4. Piquez la pulpe du doigt avec une lancette neuve et stérile.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>4. Avec une lancette neuve et stérile, piquez le centre de la pulpe du doigt ou de l'orteil en faisant un mouvement de rotation rapide.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">5-6. Exprimez la première goutte de sang et essuyez-la avec du coton sec.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>5. En appuyant légèrement sur le doigt (ou l'orteil), exprimez la première goutte de sang.</p> <p>6. Essuyez la première goutte avec du coton sec, en vous assurant de ne pas laisser des fibres de coton susceptibles de se mélanger ensuite avec le sang.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">7. Exprimez le sang et touchez-le à l'aide de la lame pour recueillir une petite goutte que vous utiliserez pour préparer le frottis mince.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>7. En tenant les lames propres uniquement par les bords, procédez rapidement au recueil du sang en appuyant doucement sur le doigt et en appliquant la lame à même le sang ; recueillez une seule goutte de sang de petite taille au milieu de la lame, pour le frottis.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">8. Exprimez ensuite deux ou trois autres petites gouttes de sang que vous utiliserez pour la goutte épaisse.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>8. En continuant d'appuyer doucement pour exprimer du sang, recueillez deux ou trois gouttes que vous mettrez sur la lame à environ 1 cm de la première goutte devant servir pour le frottis mince.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">9. Essuyez le sang restant sur le doigt.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>9. Essuyez le sang restant sur le doigt à l'aide d'un coton sec et propre.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">10. Placez la lame sur une surface plane, les étalements vers le haut.</div> <p style="text-align: center;">↓</p>	<p>10. Ne vous arrêtez pas entre le moment où vous mettez la lame en contact avec le sang et celui où vous répartissez les gouttes. Préparez les étalements de sang en déposant la lame sur une surface plane.</p>	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">11-13. En utilisant une lame propre pour étaler les gouttes, préparez le frottis mince en poussant la goutte de sang vers l'avant dans un mouvement doux et continu.</div>	<p>11. <b>Pour préparer le frottis</b>, placez le bord d'une lame propre servant à répartir la goutte à 45° devant la goutte de sang prévue pour le frottis mince.</p> <p>12. Tirez délicatement la lame servant à l'étalement de la goutte vers l'arrière jusqu'à ce qu'elle touche la goutte de sang et que celle-ci se répartisse le long du bord de la lame d'étalement.</p> <p>13. Poussez rapidement la deuxième lame vers l'avant (éloignez-la du centre) avec un mouvement continu, sans à-coups, jusqu'à ce que la deuxième lame ait permis un étalement en forme de « plume », qui servira pour le frottis.</p>	

SCHÉMA	DESCRIPTION DE L'ACTIVITÉ	Illustration
<p style="text-align: center;">↓</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <p>14. Avec le coin de la deuxième lame, faites la goutte épaisse en réunissant les trois gouttes de sang, que vous étalerez en cercle.</p> </div> <p style="text-align: center;">↓</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <p>15. Laissez sécher à l'horizontale. Si vous désirez un séchage rapide des lames, vous pouvez utiliser une plaque chauffante.</p> </div>	<p>14. Avec le coin de la même lame utilisée pour l'étalement du frottis, faites la <b>goutte épaisse</b> en réunissant les trois gouttes de sang, que vous étalerez en cercle. La goutte épaisse doit avoir 1 cm de diamètre environ. Évitez de remuer le sang. Étalez-le en cercle ou en rectangle en trois à six mouvements rapides et continus avec le coin de la deuxième lame.</p> <p>15. Après avoir préparé le frottis mince et la goutte épaisse, laissez sécher les étalements à l'air et à l'horizontale sur un râtelier. Si vous désirez un séchage rapide des lames, séchez-les avec de l'air chaud provenant d'un sèche-cheveux pendant cinq secondes, à une distance de 30 cm. Il faut toutefois éviter de placer les lames trop près du sèche-cheveux, faute de quoi la chaleur risque de fixer les étalements de sang.</p>	

## 6. REMARQUES

- La goutte épaisse devrait sécher à l'horizontale et être protégée des mouches et de la saleté.
- La goutte épaisse peut se fixer spontanément en cas d'exposition à une chaleur élevée et devrait donc être colorée immédiatement.
- On peut sécher la goutte épaisse en douceur en utilisant un sèche-cheveux à air chaud ou toute autre méthode de séchage, pour autant que l'étalement ne se fixe pas spontanément avec la chaleur, ce qui peut survenir rapidement. Ne remettez un sèche-cheveux qu'aux techniciens sachant utiliser cette méthode.
- N'utilisez pas de stylo à bille ou de stylo à encre gel, car l'encre se répandra sur la lame au moment de la fixation.
- Quand la préparation est correcte, il reste très peu de sang sur la lame qui a servi à faire les étalements. Celle-ci peut donc être utilisée pour recueillir le sang du patient suivant et y faire la goutte épaisse et le frottis avec une nouvelle lame propre tirée du paquet. Ne réutilisez jamais une lame ayant servi à l'étalement.

## 7. MODES OPÉRATOIRES NORMALISÉS CONNEXES

DMP-MON-01 : Nettoyage et stockage des lames de microscope

DMP-MON-06 : Étiquetage des étalements de sang à la recherche du paludisme

DMP-MON-11 : Procédures générales de sécurité dans le laboratoire de diagnostic microscopique du paludisme

DMP-MON-13 : Gestion des déchets issus de tests de diagnostic du paludisme

## 8. RÉFÉRENCES

OMS. Techniques de bases pour le diagnostic microscopique du paludisme – Partie I : Guide du stagiaire. Deuxième édition. Genève, 2010.

## 9. HISTORIQUE DU DOCUMENT

Date (mois/année)	Version	Commentaires	Personne responsable (Nom, prénom)
Janvier 2016	1	Examiné et finalisé par des experts, édité et mis en page	Gonzales, Glenda Fonctionnaire technique, WPRO