



## REPUBLIQUE DU NIGER

Ministère de la Santé Publique

Centre de Recherche Médicale et Sanitaire

Etablissement Public à caractère Scientifique et Technique

*Réseau International des Instituts Pasteur*

BP 10887 – 634 Bd de la Nation, YN034 Niamey – NIGER

Tel: (227) 20 75 20 40 / 45, Fax: (227) 20 75 31 80, [cermes@cermes.org](mailto:cermes@cermes.org)

### Centre de Formation Pierre et Anne-Marie Moussa CFPAM

Termes de références des travaux pratiques (TP) ou dirigés (TD)  
proposés par le CERMES aux étudiants  
des Instituts de santé et des Universités nationales



Adresse : 634, Bd de la Nation, YN034

Tel : (+227) 20 75 23 36

Fax : (+227) 20 75 31 80

BP : 10887, Niamey NIGER

Email: [contact@cfpam-cermes.org](mailto:contact@cfpam-cermes.org)

*Février 2017*

## Sommaire

<b>1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Justification.....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Objectifs.....</b>	<b>3</b>
	<b>Objectif principal.....</b>	<b>3</b>
	<b>Objectifs spécifiques .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Résultats attendus .....</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Fiches de travaux pratiques .....</b>	<b>5</b>
	<b>Fiche des travaux pratiques de biologie moléculaire.....</b>	<b>5</b>
	5.1.1 Objectif .....	5
	5.1.2 Profil des participants :.....	5
	5.1.3 Prérequis.....	5
	5.1.4 Volume horaire :.....	5
	5.1.5 Jour 1 : Présentation de la technique PCR.....	5
	5.1.6 Jour 2 : PCR conventionnelle .....	5
	5.1.7 Jour 2 : PCR en temps réel .....	5
	5.1.8 Résultats attendus .....	5
	5.1.9 Matériels.....	6
	<b>Fiche des travaux pratiques d'immunologie .....</b>	<b>7</b>
	5.1.10 Objectif.....	7
	5.1.11 Profil des participants .....	7
	5.1.12 Prérequis .....	7
	5.1.13 Volume horaire :.....	7
	5.1.14 Jour 1 : Réalisation des tests ELISA .....	7
	5.1.15 Jour 2 : Réalisation des tests de diagnostic rapide pour le diagnostic des méningites	7
	5.1.16 Résultats attendus.....	7
	5.1.17 Matériels .....	7
	<b>fiche des travaux pratiques de bactériologie .....</b>	<b>8</b>
	5.1.18 Objectif.....	8
	5.1.19 Profil des participants .....	8
	5.1.20 Volume horaire :.....	8
	5.1.21 Jour 1: Mise en culture.....	8
	5.1.22 Jour 2 : Identification et antibiogramme.....	8
	5.1.23 Jour 3 : Interprétation et rendu des résultats.....	8
	5.1.24 Résultats attendus.....	8
	5.1.25 Matériels .....	8
	<b>Fiche des travaux pratiques en entomologie et parasitologie.....</b>	<b>9</b>
	5.1.26 Objectif.....	9
	5.1.27 Profil des participants .....	9
	5.1.28 Prérequis .....	9
	5.1.29 Volume horaire :.....	9
	5.1.30 Jour 1 : Méthodes de capture des moustiques et test de sensibilité OMS (8H).....	9
	5.1.31 Jour 2 : Réalisation du frottis mince, de la goutte épaisse et du TDR (5H).....	9
	5.1.32 Matériels .....	9
	5.1.33 Résultats attendus.....	10
<b>6</b>	<b>Annexe : Comité d'élaboration du référentiel .....</b>	<b>11</b>

## 1 Introduction

Le centre de recherche médicale et sanitaire (CERMES) est un Établissement Public à caractère Scientifique et Technique (EPST) depuis juin 2002, sous la tutelle du Ministère de la Santé (MSP) et rattaché à la Direction Générale de la Santé Publique. Les domaines d'expertise du CERMES sont :

- La recherche sur le paludisme
- La recherche sur les méningites bactériennes
- La recherche sur les relations santé-environnement-climat

En plus de ces principales thématiques de recherche, le CERMES abrite aussi quatre Laboratoires Nationaux de Références (LNR) que sont :

- LNR pour le Diagnostic et Surveillance de la Méningite
- LNR pour le Diagnostic et Surveillance de la Grippe
- LNR pour le Diagnostic et Surveillance du Choléra et autres Gastro-entérites
- LNR pour la Surveillance de la résistance aux antipaludiques

Aussi, depuis février 2012, le CERMES s'est doté d'un centre de formation, dénommé Centre de Formation Pierre et Anne-Marie Moussa (CFPAM), créé pour servir de cadre de formation aux professionnels et étudiants du domaine des sciences de la santé du Niger.

## 2 Justification

L'analyse de la situation des Instituts de santé et Universités nationales démontre un état peu reluisant des laboratoires notamment sur le plan des équipements et outils de travail. Ainsi, pour parer à ces insuffisances et réaliser sa mission de formation, le CERMES propose un programme de formations pratiques à l'endroit de ces écoles.

Ce programme comporte des travaux pratiques (TP) qui concernent quatre principaux domaines de la biologie à savoir :

- Bactériologie
- Parasitologie / Entomologie
- Sérologie / Immunologie
- Biologie moléculaire

## 3 Objectifs

### Objectif principal

Ces formations pratiques visent à renforcer les capacités des étudiants dans la maîtrise des outils et techniques de diagnostics biologiques.

### Objectifs spécifiques

- Etre capable de réaliser le diagnostic bactériologique de la méningite, du choléra et autres gastroentérites ;
- Etre capable d'effectuer un échantillonnage de moustiques et de différencier les anophèles vecteurs du paludisme des autres moustiques ;

- Etre capable de réaliser les tests immunologiques ;
- Etre capable de réaliser un diagnostic moléculaire par Réaction en Chaîne par Polymérase (PCR).

#### **4 Résultats attendus**

- La capacité pour réaliser le diagnostic bactériologique de la méningite, du choléra et autres gastroentérites est renforcée;
- La capacité d'effectuer un échantillonnage de moustiques et de différencier les anophèles vecteurs du paludisme des autres moustiques est renforcée;
- La capacité pour réaliser les tests immunologiques est renforcée;
- La capacité pour réaliser un diagnostic moléculaire par Réaction en Chaîne par Polymérase (PCR) est renforcée.

## 5 Fiches de travaux pratiques

### Fiche des travaux pratiques de biologie moléculaire

#### 5.1.1 Objectif

Réaliser un diagnostic moléculaire par Réactions en Chaîne par Polymérase (PCR).

#### 5.1.2 Profil des participants :

- Etudiants des Facultés de Pharmacie, Médecine, Science.
- Etudiants en section de Laboratoire des Instituts de Santé.
- Et autres...

#### 5.1.3 Prérequis

- Connaître la structure et les propriétés biochimiques des molécules d'ADN et d'ARN
- Connaître la notion d'expression de gènes

#### 5.1.4 Volume horaire :

10 heures

#### 5.1.5 Jour 1 : Présentation de la technique PCR

- Rappel des principes et étapes de la PCR
- Présentation des salles PCR,
- Programmation des thermocycleurs
- Extraction d'ADN/ARN

#### 5.1.6 Jour 2 : PCR conventionnelle

- Préparation du mix
- Amplification
- Préparation du gel d'agarose
- Electrophorèse sur gel d'agarose
- Lecture des résultats

-

**OU**

#### 5.1.7 Jour 2 : PCR en temps réel

- Préparation du mix
- Amplification
- Lecture des Résultats

#### 5.1.8 Résultats attendus

- Le diagnostic moléculaire par Réactions en Chaîne par Polymérase est réalisé

### 5.1.9 Matériels

- Consommables : embouts pour pipette, tubes Eppendorf , sachet poubelle, blouse, charlotte, surchaussure, portoir pour tube
- Réactifs : Agarose, BET, Taq polymerase , dNTPs, amorces et sondes
- Appareils : Cuves d'électrophorèse, four micro-onde, Thermocycleurs, centrifugeuse, pipettes, PSM, vortex,

## Fiche des travaux pratiques d'immunologie

### 5.1.10 Objectif

Apprendre les techniques immunologiques basées sur la réaction antigène-anticorps notamment le test d'ELISA et les tests de diagnostic rapide (TDR) pour le diagnostic des méningites bactériennes.

### 5.1.11 Profil des participants

- Etudiants des Facultés de Pharmacie, Médecine, Science.
- Etudiants en section de Laboratoire des Instituts de Santé.
- Et autres...

### 5.1.12 Prérequis

- Savoir les principes de réaction antigène-anticorps

### 5.1.13 Volume horaire :

10 heures

### 5.1.14 Jour 1 : Réalisation des tests ELISA

- Coating des plaques ELISA
- Lecture des résultats au spectrophotomètre

### 5.1.15 Jour 2 : Réalisation des tests de diagnostic rapide pour le diagnostic des méningites

- Principes de la réaction d'agglutination
- Présentation des kits RDT1 et RDT2
- Test et Lecture des résultats

### 5.1.16 Résultats attendus

Les techniques immunologiques basées sur la réaction antigène-anticorps notamment le test d'ELISA et les tests de diagnostic rapide (TDR) pour le diagnostic des méningites bactériennes sont réalisés.

### 5.1.17 Matériels

- Consommables: Embouts pour pipettes, plaques ELISA, portoirs,
- Réactifs: Eluants, solution de lavage, solution de révélation
- Appareils: Laveur de plaque ELISA, Spectrophotomètre, pipettes multicanaux,

## **fiche des travaux pratiques de bactériologie**

### **5.1.18 Objectif**

Apprendre l'analyse bactériologique de la réception de l'échantillon biologique jusqu'au rendu du résultat.

### **5.1.19 Profil des participants**

- Etudiants des sections laboratoire des Instituts de Santé
- Etudiants des Facultés de Pharmacie, Médecine, Science.
- Et autres...

### **5.1.20 Volume horaire :**

15 Heures

### **5.1.21 Jour 1: Mise en culture**

- Réception et identification des échantillons
- Examen macroscopique
- Etat frais/Coloration de Gram
- Préparation des milieux de cultures
- Ensemencement des milieux de culture

### **5.1.22 Jour 2 : Identification et antibiogramme**

- Lecture et identification des colonies
- Tests biochimiques
- Antibiogramme

### **5.1.23 Jour 3 : Interprétation et rendu des résultats**

- Lecture de l'antibiogramme
- Identification des germes et rendu des résultats
- Conservation des souches
- Elimination des déchets

### **5.1.24 Résultats attendus**

L'analyse bactériologique de la réception de l'échantillon biologique jusqu'au rendu du résultat est apprise

### **5.1.25 Matériels**

- Consommables: Gants, Géloses, lames,
- Réactifs: milieu de culture, Eau distillée, colorants de Gram, API 20E
- Appareils : Microscope, Incubateur, PSM, Jarre anaérobique



## Fiche des travaux pratiques en entomologie et parasitologie

### 5.1.26 Objectif

- Apprendre les techniques nécessaires à l'échantillonnage des moustiques, l'identification des anophèles et la réalisation du test OMS de sensibilité aux insecticides.
- Mettre en évidence la présence ou l'absence des espèces plasmodiales dans les étalements de sang.

### 5.1.27 Profil des participants

- Etudiants Licence 3, Master 1 et 2 des Faculté des Sciences.
- Etudiants en section de laboratoire des Instituts de Santé ;
- Et autres...

### 5.1.28 Prérequis

- Connaître les différentes relations hôte – pathogène
- Connaître le cycle de transmission du paludisme

### 5.1.29 Volume horaire :

13 Heures

### 5.1.30 Jour 1 : Méthodes de capture des moustiques et test de sensibilité OMS (8H)

- Utilité des captures des moustiques
- Relation entre méthode de capture et projet de recherche
- Pose des pièges lumineux de capture (19h pose des pièges et retrait le lendemain matin à 7h)
- Etalement des draps pour la capture des moustiques endophiles par aspersion intra domiciliaire (CAI)
- Capture par atterrissage sur sujet humain (la nuit)
- Différentiation des anophèles et les culex larves et adultes
- Récupération des pièges lumineux et différenciation des anophèles et des culex
- Test de Sensibilité OMS

### 5.1.31 Jour 2 : Réalisation du frottis mince, de la goutte épaisse et du TDR (5H)

- Prélèvement de sang
- Préparation et coloration du frottis mince et de la goutte épaisse
- Examen de la goutte épaisse à la recherche des parasites
- Identification de l'espèce plasmodiale et estimation de la densité parasitaire
- Principe du TDR, Réalisation du TDR et Lecture et interprétation des résultats du TDR

### 5.1.32 Matériels

- Appareils: microscope, piège lumineux, loupes, draps blancs, pinces, marqueurs, pots, bottes, boîtes pour collecte de larves, louche, tubes, sacs, coton, bombe insecticide, pipette, tamis, gants,
- Consommables: lames, lamelles, vaccinostyle, insecticide,

- Réactifs: colorants de GIEMSA, méthanol, Kits de TDR

#### **5.1.33 Résultats attendus**

- Les Techniques d'échantillonnage des moustiques et d'identification des anophèles sont apprises ;
- Les techniques de mise en évidence des parasites sont apprises

## 6 Annexe : Comité d'élaboration du référentiel

<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Qualité</b>
<b>Lagare</b>	Adamou	Coordonnateur, Responsable LNR Grippe
<b>Boubacar</b>	Mahamadou	Responsable LNR Parasitologie
<b>Mahamadou</b>	Izamné	Plateforme Entomologie Médicale
<b>Ibrahim</b>	Issa Arzika	Plateforme Parasitologie
<b>Issaka</b>	Seidou	Responsable LNR méningite
<b>Ali Elh</b>	Mahaman	Plateforme Immunologie
<b>Jibir</b>	Zanguina	Responsable LNR cholera et autres gastro-entérites
<b>Abdou Oumarou</b>	Mamane	Gestionnaire du Centre de Formation Pierre Moussa CERMES Initiateur du projet