



Université Claude Bernard de Lyon



Hôpitaux de Lyon

Rapport de mission d'enseignement de toxicologie analytique

Faculté de pharmacie de Kaboul
du 25 septembre au 8 octobre 2004

Professeur Jean-Pierre ARNOULD

Biologiste - Toxicologue
Faculté de Pharmacie - Amiens
Université de Picardie Jules Verne

Traduction réalisée par Monsieur Ali Sadjaj



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Avec le soutien de l'Ambassade de France en Afghanistan

Objectifs

Cette mission s'inscrit dans le cadre de la collaboration entre la Faculté de Pharmacie de Kaboul et la Faculté de Pharmacie de Lyon. Elle est un complément à d'autres missions effectuées par :

- Jérôme GUITTON : enseignement magistral de la toxicologie (octobre 2003)
- Karen GAUDIN : enseignement magistral de chimie analytique (avril 2004),
- Gino RONCO : enseignement magistral de chimie analytique appliquée au contrôle du médicament (mai 2004)

Accueil

Une réunion de travail pilotée par le Pr BABURY, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Kaboul, s'est tenue le lundi 27 septembre (à 8 Heures) afin de faire la connaissance des enseignants, des locaux de la Faculté et de programmer les séances de toxicologie analytique.

Participaient à cette réunion le Pr FAIZI, les Drs NEMATY, FARIDA, HAMID MASHAL, et Ali SADJAD.

Etat des lieux

J'ai découvert un laboratoire parfaitement agencé par Ali SADJAD lors de la mission effectuée à KABOUL, en juillet 2004.

Le laboratoire situé au dernier étage comporte deux grandes paillasse centrales, une paillasse située à l'extrémité de la salle et une autre placée près de la porte d'entrée.

Les étudiants peuvent être répartis sur quatre zones de travail.

Deux autres zones sont occupées par du **matériel de laboratoire très performant offert par la région Rhône Alpes et l'Ambassade de France (Mission Santé dirigée par le Dr F. TISSOT)** :

- sur une paillasse centrale sont disposés les **2 spectrophotomètres** et **l'imprimante**,
- sur la paillasse située à l'extrémité de la pièce une partie est réservée à la **centrifugeuse**, aux **agitateurs** magnétiques et de type « Vortex »,
- sur la paillasse située près de la porte d'entrée (à proximité du **réfrigérateur**) se trouvent les **2 balances**, le **pH-mètre**, **l'étuve**, **la hotte** : cette partie doit être utilisée par la technicienne pour réaliser les préparations.

Recommandations pour les futurs missionnaires

Il faudra veiller **au respect de l'implantation du matériel** : en effet balances et spectrophotomètres ne doivent pas être placés à proximité d'appareils produisant des vibrations (cf centrifugeuses, agitateur magnétique, agitateur « Vortex »).

Les transformateurs alimentant le pH-mètre et les deux balances ont été libellés (**il faudra vérifier leur identification permanente**) afin d'éviter tout problème de voltage et d'inversion de polarité compte tenu de la similitude des prises d'alimentation (jacks).

Programme d'enseignement pratique développé au cours de la mission

Le lundi après-midi a été consacré à la mise au point des premières manipulations et à un échange d'informations concernant le niveau des étudiants (3^{ème} année pour l'enseignement de Toxicologie).

Mardi 28 septembre :

9h30 : Travaux Pratiques de Toxicologie : cette première séance a été consacrée à la découverte du matériel contenu dans le laboratoire et en particulier au fonctionnement du **spectrophotomètre** et de **matériels inconnus** comme les micro-pipettes et les dispositifs type poire d'aspiration (pro-pipette).

Les étudiants ont pu ainsi apprendre des « gestes de base » : **réalisations de dilutions** à partir d'une solution mère de bleu de méthylène, **détermination des absorbances** et **construction de la courbe d'étalonnage** sur papier millimétré dont l'utilisation, jusqu'à présent, était inconnue....

Mercredi 29 septembre :

8h : A la demande des enseignants de Toxicologie nous avons programmé la même séance que celle du mardi, mais cette fois **les enseignants afghans ont pris « en main » la réalisation des Travaux Pratiques**. Bien entendu, nous avons apporté notre concours pour aider nos collègues durant cette séance.

L'après-midi a été consacrée à un échange entre enseignants : j'ai fait découvrir des **CD d'information sur les produits chimiques** et ai donné des informations sur des **sites Internet consacrés à la Toxicologie**.

Jeudi 30 septembre :

8 h : arrivée à la Faculté de Pharmacie

9h - 11h10 : Séance consacrée au **dosage du Paracétamol** en tant que **principe actif** par méthode spectrophotométrique pour les étudiants de 4^{ème} année (enseignement de contrôle des médicaments, Pr FAIZI Dr NEMATI).

11h30 - 12h50 : **Dosage du Paracétamol** dans un **milieu biologique** (sérum) par les étudiants de 3^{ème} année (enseignement de Toxicologie, Drs Hafiza HAMID et Shafiq MASHAL).

Samedi 2 octobre :

8h - 9H30 : Séance de Travaux Pratiques **organisée** (en notre présence) **par les enseignants afghans de Toxicologie** et consacrée au **dosage du Paracétamol** dans un milieu biologique avec la réalisation **d'une gamme d'étalonnage** et la construction d'une **courbe d'étalonnage**.

14h – 15h30 : préparation (avec les Drs Hafiza HAMID et Chefiq MASHAL) de la séance du dimanche.

L'après-midi nous avons effectué quelques **courses indispensables** : achat de feutres indélébiles, de feutres pour le tableau, de produit détergent, de seaux (destinés à être utilisés comme poubelle et récipient de lavage de la verrerie) et d'une cuvette !!

Dimanche 3 octobre :

8h – 9h30 : Séance d'enseignement (ED) consacrée au **dosage de l'éthanol** dans une **spécialité pharmaceutique** (étudiants de 4^{ème} année) et dans un **milieu biologique** (étudiants de 3^{ème} année).

11h20 - 12h50 : Participation aux Travaux Pratiques de contrôles des médicaments organisés par **le Pr FAIZI** : il s'agissait d'une séance utilisant des techniques qualitatives.

14h – 15h30 : Préparation avec les Drs Hafiza HAMID et Chefiq MASHAL de la séance du lundi.

Lundi 4 octobre :

8h – 12h50 : Travaux Pratiques consacrés au **dosage** (méthode spectrophotométrique) de **l'acide delta-aminolévulinique urinaire, marqueur biologique d'exposition au plomb** pour les étudiants de 3^{ème} année. Réalisation de la **gamme d'étalonnage** et de la **courbe d'étalonnage**. Lors de cette séance, **les étudiants ont dosé l'acide delta-aminolévulinique dans leur urine**.

*Séance de Travaux Pratiques de Toxicologie : Etudiants de troisième année
Dosage de l'acide delta-aminolévulinique urinaire*



Pendant la séance, nous avons eu la visite du Docteur F. TISSOT, du Docteur Latif DELIRI, en compagnie de Mr Karim.

14h – 15h30 : Préparation avec les Drs Hafiza HAMID et Shafiq MASHAL de la séance du mardi puis visite du laboratoire de biologie, Hôpital ALI ABAD

Mardi 5 octobre :

8h – 9h30 : TP contrôle des médicaments (Pr FAIZI et Dr NEMATI) : j'ai montré **l'utilisation du pH-mètre** aux étudiants de 4^{ème} année.

Durant cette séance ont été précisées les mesures à prendre pour étalonner l'appareil, pour assurer la maintenance. J'ai également insisté sur les précautions d'utilisation.

9h30 – 12h30 : Travaux Pratiques consacrés au **dosage** (méthode spectrophotométrique) de **l'acide delta-aminolévulinique urinaire** par les étudiants de 3^{ème} année. Réalisation de la gamme d'étalonnage et de la courbe d'étalonnage.

12h30 : Visite du Laboratoire de Toxicologie du Département de Médecine Légale (Faculté de Médecine) : accueil chaleureux du Directeur Adjoint et de toute son équipe.

14h – 15h30 : Préparation avec le Dr Shafiq MASHAL de la séance du mercredi.

15h45 : Passage au Centre de Transfusion pour retirer des vaccino-styles nécessaires à la réalisation du dosage carboxyhémoglobine.

Mercredi 6 octobre :

Quelques jours auparavant, j'avais demandé au Pr BABURY de supprimer la conférence (« Méthodes précliniques d'évaluation de la sécurité du médicament ») programmée pour le mercredi 6 octobre car je souhaitais effectuer, au profit des étudiants, un nombre important de séances de Travaux Pratiques. Malheureusement, la séance de Travaux Pratiques initialement prévue a été supprimée en raison des circonstances nationales (élection présidentielle). J'ai donc été amené à modifier le programme en dispensant un enseignement pour les enseignants :

8h – 9h : **Utilisation du spectrophotomètre UV** (SHIMAZU) avec les enseignants de Toxicologie et de Pharmacie Chimique. **Réalisation de spectres** (produit analysé : solution d'antiseptique).

9h - 10 : Présentation **pour les enseignants de Toxicologie** de la séance consacrée au **dosage du monoxyde de carbone**.

10h : visite du **Pr GHAZANFAR**, Directeur du Laboratoire de Toxicologie du Département de Médecine Légale, en compagnie de toute son équipe.

Cette rencontre a été très positive puisqu'elle permettra d'établir une **collaboration** entre les enseignants de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie et ceux de la Faculté de Médecine.

11h15 – 12h15 : **Dosage de la carboxyhémoglobine** (méthode spectrophotométrique) pour les enseignants de Toxicologie.

12h30 – 13h30 : Visite du Laboratoire Central de Biologie : accueil chaleureux par le Directeur Général et son adjoint.

Jeudi 7 octobre :

8h – 12h : Réunion avec les enseignants de Toxicologie : mise au point des manipulations concernant les **dosages des fluorures urinaires**, de la **recherche du méthanol** et de **toxiques médicamenteux** dans les urines (ex : barbituriques, benzodiazépines, phénothiazines, imipraminiques).

Durant cette matinée, nous avons réalisé les connexions informatiques spectrophotomètres - imprimante. Une partie de la matinée a été également consacrée, en collaboration avec **Ali SADJAD** à des déterminations de spectres de différents principes actifs (benzodiazépine, acide acétylsalicylique, paracétamol). Assistaient à cette séance les enseignants de Toxicologie et de Chimie analytique (Pr FAIZI et Dr NEMATI).

A la fin de la matinée, le **Pr BABURY**, Doyen de la Faculté de Pharmacie est venu voir le fonctionnement des spectrophotomètres et l'obtention des spectres.

Le Doyen BABURY a profité de ce moment **pour remercier la France de son aide**. Il nous a également très chaleureusement remercié pour notre concours et nos interventions qui vont permettre le démarrage des séances de Travaux Pratiques de Toxicologie.

Propositions

1 - Fonctionnement du laboratoire

Afin d'assurer un fonctionnement correct du laboratoire, **un responsable** devrait être désigné. Le **Dr Shafiq MASHAL**, jeune enseignant très dynamique, faisant preuve d'une grande disponibilité, parfaitement au courant du fonctionnement des différents appareils (à la fin de notre mission) et dont le bureau se situe à proximité du laboratoire pourrait, je pense, être désigné.....

Cet enseignant doit s'inscrire prochainement aux cours de français dispensés au sein de l'Établissement¹. Cela lui permettrait de suivre en France, par la suite, un enseignement spécialisé en Toxicologie et aussi d'y recevoir une formation technique complémentaire (ex : stage de formation HPLC – CPG) . Je pense qu'il est prêt à le faire ; et ses capacités sont déjà démontrées.

2 - Achats de fournitures complémentaires

* **Un tableau** de surface suffisante devrait être acheté et fixé au mur afin de faciliter la présentation du travail à effectuer et **un tabouret** permettant d'être correctement assis lors des opérations nécessitant l'utilisation des balances (ce matériel sera acheté par l'Ambassade).

* En raison de la présence de deux spectrophotomètres et d'une imprimante, il serait nécessaire de faire l'acquisition d'une **boîte de connexion informatique** comportant deux entrées et une sortie, ce qui éviterait de débrancher, lors de chaque utilisation, un câble informatique.

* Localement, **un couvercle** (en aluminium ou inox) devrait être commandé (atelier de ferronnerie, Kaboul) afin de recouvrir le bain-marie et ainsi de pouvoir atteindre la température de **100°C**).

¹ Note de l'Ambassade : il a été clairement précisé à Monsieur Shafiq que toute éventuelle formation en France passait obligatoirement par l'apprentissage de la langue française. Celui-ci ne s'est pourtant pas inscrit aux cours de Français délivrés au sein même de la Faculté en faveur des enseignants de la Faculté. Il lui a été vivement conseillé de s'inscrire au Centre Culturel Français qui propose des sessions intensives (90 min par jour durant trois mois)

* **La verrerie sera à compléter** avec l'achat :

- de fioles jaugées de 500 ml, 1000 ml,
- de béchers de 500ml, 1000 ml,
- d'Erlen-Meyers de 250 ml, de 500 ml, de 1000 ml,
- d'entonnoirs,
- de pipettes graduées de 0 à 2 ml, de 0 à 5 ml et de 0 à 10 ml (de la marque Brand : les graduations restent parfaitement visibles dans le temps !).
- de quelques appareils à distiller (ballon, colonne de distillation avec réfrigérant (cf : dosage éthanol par distillation)
- d'ampoules à décanter avec robinet muni de joint téflon

Les flacons (1000 ml) achetés en 2004 ne comportent pas de bouchon à vis : leur achat est à prévoir.

- *Des supports de pipette sont à prévoir ainsi que des portoirs supplémentaires
- * Deux **électrodes de conductimétrie** (pouvant être utilisées sur les deux pH-mètres) : cette **demande a été formulée (avec insistance) par le Pr FAIZI et son équipe**.
- * Une pompe à vide de pailleasse pour brancher une trompe à vide (nettoyage des pipettes)
- * Un support de verrerie à fixer au mur serait d'une grande utilité
- * Du « Parafilm »
- * Des cuves à usage unique destinées l'utilisation dans le domaine « visible »
- * Des cuves usage unique pouvant être utilisées dans le domaine « UV »
- * Un jeu de cuves en verre et un jeu de cuves en quartz
- * Des goupillons devront être achetés ainsi que des gants à usage unique (latex).

3 - Achats d'équipements de laboratoire à prévoir ultérieurement

Le choix des appareils a été évoqué par les Prs BABURY, FAIZI, les Drs NEMATI, Hafiza HAMID et Shafiq MASHAL. Ces enseignants souhaiteraient voir le laboratoire équipé, dans l'avenir, d'une chaîne de Chromatographie Liquide Haute Pression avec détecteurs UV et de Fluorescence, d'une chaîne de chromatographie en Phase Gazeuse (avec générateur d'hydrogène), d'un appareil d'absorption atomique ². Mais ces différents équipements ne pourraient être fournis que si un enseignant reçoit une formation adaptée (cf mon avis sur les capacités du Dr Shafiq MASHAL). Je pense que l'utilisation de ces appareils pourrait être partagée avec le laboratoire de Toxicologie (Médecine légale) dirigé par le Pr GHAZANFAR,

4 - Suivi du fonctionnement du matériel et information pour la prochaine mission

- Lors de la dernière séance de Travaux Pratiques, le spectrophotomètre SHIAZU 1240 UV mini (encore sous garantie) a présenté un **défaut de fonctionnement** : l'utilisation du programme « spectre » n'est plus possible. Ce point sera évoqué avec Dominique MARCEL, à mon retour. Il s'agit vraisemblablement d'un **problème d'initialisation** du programme.

- **Rappel** : le second pH-mètre est **toujours dépourvu** de l'alimentation (transformateur 220V-12V) et n'est donc **pas fonctionnel** .

² Note de l'Ambassade de France : avant toute chose, il semble nécessaire que les experts français donnent leur avis et en discutent avec le Doyen Babury.

Conclusion

La mission s'est déroulée sans problème majeur. Grâce aux quelques produits chimiques amenés par Ali SADJAD et moi-même et également grâce aux produits trouvés, sur place, dans quelques laboratoires de la Faculté, nous avons pu faire face à la carence de livraison des produits chimiques commandés chez Sigma.

Les objectifs pédagogiques vis à vis des étudiants et des enseignants ont été atteints, le programme prévu a été réalisé : **les étudiants ont bénéficié de premières séances de Travaux Pratiques** et les enseignants ont obtenu les **informations nécessaires à la poursuite**, après notre départ, des séances d'enseignement pratique. .

Les rapports avec mes collègues, enseignants de Toxicologie, se sont révélés très fructueux : **des échanges scientifiques sont prévus** avec l'envoi régulier d'articles scientifiques, d'échantillons de produits chimiques, de petits matériels et même d'assistance (via Internet) en cas de difficultés pour la réalisation de manipulations pratiques. **Une collaboration dans le domaine de la Recherche est également envisagée.**



Au terme de cette mission je tiens à remercier :

- **Le Docteur Frédéric TISSOT**, Chef du Projet Santé, pour son aide et son accueil,
- **Tous les membres de son équipe** pour leur dynamisme et gentillesse : ils ont permis le bon déroulement de la mission,
- **Ali SADJAD** pour son aide technique et également pour la traduction des exposés et des documents de travail : la mission a été facilitée par sa présence,
- **Mathias Altmann**, interne en pharmacie, pour son aide,
- **Dominique MARCEL et Jérôme GUITTON** pour leurs précieux conseils.

Rapport de mission validé le 13 octobre 2004
par l'Ambassade de France à Kaboul
- Les constats et propositions appartiennent à l'auteur -



André Tissot