

SOMMAIRE :

- Liste des photos, figures, tableaux
- Liste d'abréviations
- Description de CHP d'Ifrane
- Introduction

Partie I : Données bibliographiques

1. Les analyses médicales
 - a. L'hématologie
 - i. Les cellules sanguines
 - ii. L'hémostase
 - b. La sérologie
 - c. Analyse biochimique
2. Les analyses médicales en hématologie
 - a. Numération Formule Sanguine
 - i. Hématocrite
 - ii. Hémoglobine
 - iii. Volume globulaire moyen
 - iv. Teneur corpusculaire moyen en hémoglobine
 - v. Concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine
 - b. Frottis Sanguin
 - c. Groupage Sanguin
 - i. Détermination de groupe sanguin
 - ii. Détermination de système rhésus
 - d. Les paramètres de la coagulation
 - i. Temps de Quick
 - ii. Temps de Céphaline Active
 - e. Vitesse de Sédimentation

Partie II : Matériel et méthodes

Partie III : Résultats et discussion

Partie IV : Conclusion générale

Partie V : Références bibliographiques

Les photos :

- Photo 1: hôpital 20 Août d'AZROU
- Photo 2 : les anticorps utilisés pour le groupage
- Photo 3 : les tubes de prélèvement
- Photo 4 : l'appareil XT-1800i
- Photo 5 : matériel utilisés pour le TP
- Photo 6 : les tubes de westrgreen
- Photo 7 : frottis sanguin chez un individu normal
- Photo 8 : frottis sanguin d'un individu atteint d'une anémie microcytaire hypochrome

Les figures :

- Figure1: hémostase normal et coagulation sanguine
- Figure 2: réalisation de frottis sanguin
- Figure 3: réalisation du groupage sanguin ABO-RH

Les tableaux :

- Tableau I : examens pratiqués au laboratoire
- Tableau II: les aspects et les caractéristiques des cellules sanguines
- Tableau III : les réactifs utilisés par l'automate
- Tableau IV : hémogramme d'un patient normal
- Tableau V : hémogramme d'un sujet ayant une anémie et thrombopénie
- Tableau VI: résultat d'une femme enceinte sous AVK

Liste d'abréviations :

ASLO:	Anti-Streptolysin O
BASO:	Basophiles
CCMH :	Concentration Corpusculaire Moyenne d'Hémoglobine
CRP :	C-Réactive Protéine
ECBU :	Examen Cytobactériologique des Urines
EDTA:	Ethylène Diamine Tétra Acétique
EO:	Eosinophiles
GB:	Globules Blancs
GR :	Globules Rouges
HBG :	Hémoglobine
HCT:	Hématocrite
INR:	International Normalized Ratio
ISI :	Index de Sensibilité International
LYMPH:	Lymphocytes
MGG:	May Grunwald Giemsa
MONO:	Monocytes
NEUT:	Neutrophiles
NFS :	Numération Formule Sanguine
PLQ :	Plaquettes
TCA :	Temps de Céphaline Active
TCK :	Temps de Céphaline Kaolin
TGMH :	Taux Globulaire Moyen d'Hémoglobine
TP :	Temps de Prothrombine
TPHA:	Treponema Pallidum Haemagglutination Assay
VDRL:	Veneral-Disease-Research-Laboratory
VGM :	Volume Globulaire Moyen
VPM :	Volume plaquettaire moyen
VS :	Vitesse de Sédimentation
AVK :	Anti-vitamines K

DESCRIPTION DE STRUCTURE D'ACCUEIL :

Le centre hospitalier provincial (CHP) 20 Août d'AZROU, crée au début des années 1988, reçoit un effectif qui varie en fonction des années. Le centre se compose par un rez-de-chaussée dont lequel se trouve un laboratoire des analyses médicales et par un premier étage qui contient des salles d'accouchement.

Au laboratoire travaille sept techniciens (deux sont spécialisés en hématologie, trois en biochimie et les deux autres sont spécialisés en bactériologie), deux infirmières responsables des prélèvements des patients, deux assistants médicaux, une secrétaire, un agent de service et une pharmacienne biologiste spécialisée en biologie médicale.

Les techniques opératoires utilisées dans chaque service sont :

- Hématologie (NFS, VS, TP, TCA, groupage sanguin).
- Bactériologie (ECBU, Antibiogramme...).
- Immuno-sérologie (CRP, ASLO, TPHA, VDRL).
- Biochimie (glycémie, cholestérol, triglycérides, créatinine...).

Le tableau suivant représente l'effectif total des examens pratiqués au laboratoire en 2014/2015 :

Tableau I : Examens pratiqués au laboratoire

Examens pratiques	Effectif total
Bactériologie	861
Parasitologie	0
Immuno-sérologie	7452
Hématologie et transfusion	15711
Hygiène alimentaire	0
Chimie biologie (biochimie)	32435
Nombre de prélèvements effectués au laboratoire	9701
Nombre de prélèvements des malades hospitalisés	2313



[Photo 1:Hôpital 20 Août d'AZROU](#)

INTRODUCTION:

Une grande partie des hémopathies (maladies hématologiques) qui affectent certains ou tous les composants du sang et de la moelle osseuse est due soit au manque soit à l'excès de synthèse de ces composants ; en ce qui concerne les cellules sanguines, il s'agit d'un problème lors d'une étape de l'hématopoïèse (synthèse des cellules sanguines dans les os) ou dans la différenciation au niveau des organes lymphoïdes secondaires, ainsi qu'aux problèmes liés aux facteurs de coagulation au niveau du foie. Il peut également s'agir d'une perte excessive en périphérie ou de la synthèse des cellules non fonctionnelles.

Les tests les plus utilisés pour le diagnostic et l'étude des problèmes hématologiques sont

- l'hémogramme (ou numération formule sanguine, NFS) généralement automatisé ; cet examen est essentiel d'apprécier un dysfonctionnement de la moelle osseuse ou des perturbations (anémies, augmentation des GB, polyglobulie, consommation des plaquettes, problème de coagulation...).
- le test du groupage sanguin qui joue un rôle très important dans le cadre de transfusion sanguine afin de respecter la compatibilité ;
- la vitesse de sédimentation qui déterminera la présence ou l'absence d'une réaction inflammatoire.

Les explorations de coagulation, ce sont deux temps de coagulation :

- Le temps de céphaline activé (TCA) qui mesure l'effet d'addition de céphaline
- Le temps de Quick (TQ) exprimé en international normalized ratio (INR) chez les personnes sous AVK et qui mesure l'effet d'addition de la thromboplastine.

1. L'objectif de stage :

Le stage réalisé au laboratoire des analyses médicales au centre hospitalier provincial d'Ifrane a pour but de nous préparer au monde de travail et à concrétiser les connaissances théoriques reçues tout au long de notre cursus universitaire. Il consiste aussi à prendre connaissance des méthodes d'analyses en hématologie dans le laboratoire pour le diagnostic ou le suivi de certaines maladies et l'analyse des cellules du sang mais aussi d'éléments dissous dans le plasma comme les facteurs de la coagulation ou les anticorps.. On s'est également intéressé par l'intérêt clinique des paramètres dosés ainsi qu'à l'équipement nécessaire pour la réalisation de ces analyses.

PARTIE I: DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

1. les analyses médicales :

Une analyse médicale est une analyse faite à partir d'un élément biologique : du sang, des urines, de la sueur, de la salive, des matières fécales. C'est un examen biologique qui concourt au diagnostic, au traitement ou au pronostic des maladies humaines ou qui fait apparaître toute autre modification de l'état physiologique. Cet examen est effectué dans un laboratoire d'analyses médicales sous la responsabilité d'un médecin biologiste.





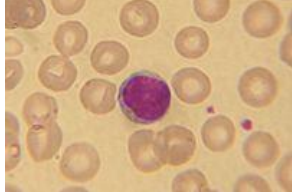
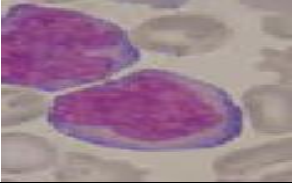

a. L'hématologie :

L'hématologie est la branche de la médecine qui étudie la physiologie et la pathologie de sang, et plus particulièrement les cellules sanguines dont l'origine est hématopoïétique et qui ont un rôle dans l'oxygénation, l'immunité et la coagulation. Elle étudie également certaines molécules plasmatiques que sont les facteurs de coagulation. Globalement, on peut distinguer la cytologie sanguine qui s'intéresse aux cellules et à leur physiologie, et à l'hémostase qui explore le phénomène de la coagulation, c'est-à-dire la formation de caillot et leur destruction ultérieure.

i. Les cellules sanguines :

Le tableau suivant résume les différentes caractéristiques des cellules sanguines (les globules rouges, les plaquettes, les globules blancs (les polynucléaires neutrophiles, les polynucléaires éosinophiles, les polynucléaires basophiles, les lymphocytes, les monocytes)), ainsi que leurs aspects.

[Tableau II : les aspects et les caractéristiques des cellules sanguines](#)

Type	Aspect	Description
Les globules rouges		Cellules dépourvues de noyau, dont le cytoplasme est riche en hémoglobine et dépourvus d'organites. Ces cellules assurent le transport des gaz respiratoires (l'O ₂ et le CO ₂).
Les polynucléaires neutrophiles		Responsables de la défense contre les infections bactériennes et autres processus inflammatoires. Le noyau est polylobé et le cytoplasme légèrement acidophile, renferme des granulations très fines.
Les polynucléaires éosinophiles		Les éosinophiles traitent en premier lieu les infections parasitaires, peuvent augmenter au moment des réactions allergiques et leur augmentation peut être une indication pour l'établissement d'un diagnostic. Ils ont un noyau bilobé avec des granulations plus grosses et de teinte orangée.
Les polynucléaires basophiles		Responsables des réponses allergiques et inflammatoires en libérant de l'histamine, ils sont caractérisés par de grosses granulations basophiles violettes.
Les lymphocytes		Deuxième cellule la plus importante après le neutrophile, son augmentation est le plus souvent signe d'une infection en particulier une infection virale.
Les monocytes		Ce sont les plus grandes cellules circulantes dans le sang, possèdent un noyau encoché, un cytoplasme gris-bleu et contient des granulations.
Les plaquettes		Fragments dépourvus de noyau. leur rôle principal est la coagulation du sang.

iii. L'hémostase :

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui assurent le maintien du sang à l'intérieur des vaisseaux, et en particulier des phénomènes qui déterminent l'arrêt du saignement lorsqu'un vaisseau est blessé. La coagulation du sang est un des temps de l'hémostase. Lorsqu'un vaisseau est blessé, diverses étapes se mettent en place :

- **L'hémostase primaire** se produit lorsque les plaquettes se lient au collagène des parois vasculaires exposées pour former un amas (le clou plaquettaire), l'agrégation plaquettaire provoque l'adhésion des plaquettes entre elles.
- **L'hémostase secondaire ou coagulation** se produit lorsque la phase préparatoire de la coagulation est déclenchée par le contact d'une protéine plasmatique, le facteur XII avec les tissus. La coagulation implique une cascade complexe de facteurs de coagulation, ce qui aboutit à la transformation du fibrinogène, une protéine du sang, en fibrine polymérisée, ce qui crée un caillot.
- Le caillot attire et stimule la croissance de fibroblastes et de cellules de muscle lisse au sein de la paroi vasculaire, et entame le processus de réparation qui résultera finalement en la dissolution du caillot (**fibrinolyse**). Ce processus dure 3 à 6 minutes après rupture du vaisseau.

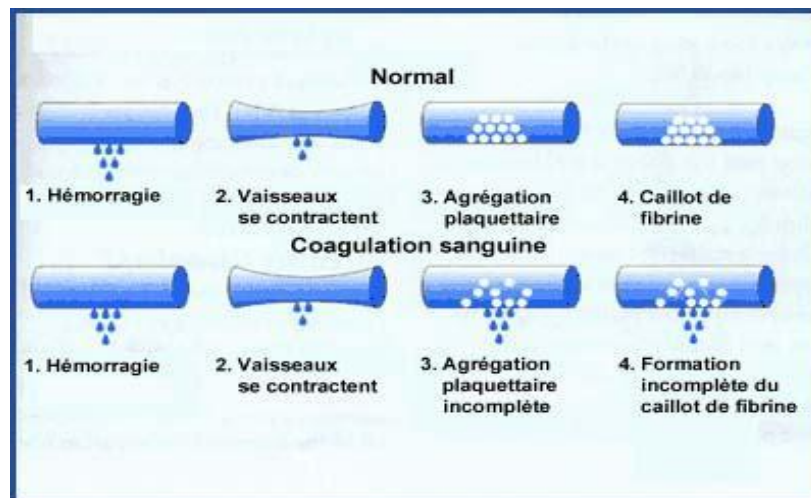


Figure 1: hémostase normal et coagulation sanguine

b. La sérologie :

La sérologie est l'étude des sérums et des variations ou modifications de leurs propriétés au cours des maladies. Elle consiste surtout, via une analyse de sang, à mettre en évidence des indices de présence de pathogènes dans l'organisme, au moyen de différents tests.

c. Analyse biochimique :

La biochimie est une discipline expérimentale qui vise l'étude des processus chimiques à la base de la vie, et aussi l'étude des réactions chimiques du monde vivant. Les analyses biochimiques consistent à mesurer les quantités des constituants des liquides biologiques (sang, urine...). La plupart des maladies ont en effet des répercussions sur leur composition et leur étude peut aider au diagnostic et au suivi de nombreuses maladies.

d. La microbiologie :

La microbiologie consiste à identifier l'agent responsable de l'infection : bactérie, parasite, champignons microscopiques, etc. Elles consistent donc à prélever un échantillon et à rechercher l'élément pathogène soit par observation directe, soit après mise en culture. L'identification du germe pathogène aidera à définir le meilleur traitement et l'antibiotique le plus efficace.

2. Les analyses médicales en hématologie :

a. Numération formule sanguine

La numération formule sanguine (NFS) ou hémogramme est un examen essentiel qui apporte des renseignements sur les cellules sanguines, sur les processus de défense immunitaire, sur l'hémostase et qui révèle des modifications évocatrices d'un grand nombre de maladies.

Elle comprend la numération (calcul le nombre absolu de différentes cellules dans un certain volume de sang) des différents éléments figurés du sang: les globules rouges ou hématies, les globules blancs ou leucocytes et les plaquettes ou les thrombocytes, et les différents paramètres très utiles au diagnostic des pathologies qui sont également mesurés ou calculés: le taux d'hémoglobine (HBG), le volume globulaire moyen (VGM), l'hématocrite (HCT), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH).

La formule sanguine des globules blancs (formule leucocytaire) détermine le pourcentage relatif (et le nombre absolu) des différentes sous-populations de globules blancs: polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, polynucléaires basophiles, lymphocytes, et monocytes.

i. L'hématocrite :

L'hématocrite correspond au volume occupé par les hématies entassées par centrifugation dans une quantité de sang total connue. Il s'exprime en pourcentage. Un taux inférieur à la normale définit une anémie.

ii. L'hémoglobine :

L'hémoglobine est une hétéroprotéine synthétisée par les érythroblastes. Elle est constituée d'une partie protéique, la globine et d'un groupement prosthétique non protéique, l'hème. Un taux inférieur à la normale définit une anémie.

iii. Le volume globulaire moyen :

Il correspond au volume moyen qu'occupe une hématie dans le sang. Il est utile au Diagnostic d'une anémie qui est définie par la diminution de taux d'hémoglobine. Il est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{VGM (fl)} = \text{Hématocrite (\%)} / \text{Nombre d'hématies (million/mm}^3\text{)}$$

iv. La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine :

C'est la quantité moyenne d'hémoglobine contenue dans un globule rouge. Elle est calculée de la façon suivante :

$$\text{TCMH (pg)} = \text{Hémoglobine (g/dl)} / \text{Nombre d'hématies (million/mm}^3\text{)}$$

v. La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine :

Elle représente le pourcentage d'hémoglobine contenu dans la masse globulaire de l'échantillon à analyser. C'est aussi le poids en gramme d'hémoglobine contenu dans 100 ml d'hématies. Elle est mesurée de la manière suivante :

$$\text{CCMH (\%)} = \text{Hémoglobine (g/dl)} / \text{Hématocrite (\%)}$$

b. Frottis sanguin :

Le frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre, colorée par le May Grunwald Giemsa et lue au microscope optique. L'étude du frottis est extrêmement utile au diagnostic cytologique de nombreuses maladies hématologiques et parasitaires (anémie microcytaire hypochrome, thrombopénie, leucopénie...).

c. Groupage sanguin :

La détermination du groupe sanguin consiste à rechercher la présence ou l'absence des antigènes A et B présents sur les globules rouges et les anticorps correspondants aux antigènes absents dans le

sérum. La détermination du groupe dans le système Rhésus permet de distinguer les sujets dits Rhésus D positif des sujets Rhésus négatif.

i. Détermination de groupe sanguin

Cette technique est basée sur le Principe d'agglutination Ag-Ac sur plaque et se réalise par deux épreuves différentes :

Epreuve Globulaire : épreuve de BETH –VINCENT : Les hématies à tester sont mises en contact avec des sérums tests connus Anti A, Anti B, Anti AB afin d'identifier les antigènes A et B.

Epreuve Sérique : épreuve de SIMONIN : Le sérum à tester est mis en contact avec des hématies tests connues A et B afin d'identifier l'anti A et l'anti B.

ii. Détermination de groupe rhésus

Cette technique est basée sur La recherche à la surface des hématies (GR) de l'Ag D à l'aide de sérum test : Anti-D

- Hématies+ Anti-D Agglutination+ RH+
- Hématies +Anti-D Agglutination - RH-



Photo 2: les anticorps utilisés pour le groupage

d. Les paramètres de la coagulation :

i. Le temps de quick

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté, en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire (facteur 3 tissulaire), à 37°C. Il explore la voie exogène de la coagulation, c'est-à-dire les

facteurs I (fibrinogène), II, V, VII et X. C'est l'un des tests utilisés pour surveiller les traitements aux anti-vitamines K.

ii. Le temps de céphaline active

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté, en présence de céphaline (support biologique lipidique remplaçant les plaquettes) et de kaolin (activateur du système contact de la voie intrinsèque) à 37°C. Il explore la totalité de la voie endogène de la coagulation à l'exception des plaquettes, c'est-à-dire les facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, II, et I.

e. La vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation ou VS peut être définie comme étant la vitesse avec laquelle chutent les hématies en suspension dans un plasma citraté à l'intérieur d'un tube de westergreen maintenu verticalement. La vitesse de sédimentation reste le principal marqueur humoral, le moins coûteux de la réaction inflammatoire qui est exploré actuellement par le profil protéinique de l'inflammation. Les protéines de l'inflammation qui contribuent à l'accélération de la VS sont le fibrinogène, l'haptoglobine. La vitesse de sédimentation est réalisée classiquement chez un patient à jeun (cette condition n'est pas toujours nécessaire), le prélèvement est fait sur du sang veineux recueilli sur une solution de citrate tri sodique (31,3 g/l) en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour quatre volumes de sang.

PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Numération formule sanguine

La numération formule sanguine est faite au moyen d'une simple prise de sang, puis l'analyse est effectuée par un automate qui mesure les différents paramètres.

a) Prélèvement :

Il se réalise par ponction veineuse franche, chez un sujet à jeun ; cette précaution n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement peut être effectué sur du sang capillaire ou sur du sang veineux en tube contenant une substance anticoagulante EDTA (éthylène diamine tétra acétique) qui va empêcher le sang de se "gélifier" et permet une meilleure conservation des cellules. Dès que la prise de sang est terminée il faut homogénéiser le prélèvement par des mouvements de retournement doux pour éviter l'apparition de caillot. Les tubes de prélèvement (la couleur du bouchon est normalisée en fonction de l'anticoagulant, en l'occurrence, le violet) utilisés dans la plupart des cas ont un volume nominal de 5 ml et sont calibrés pour des prélèvements de 4 ml de sang + 1 ml d'EDTA.

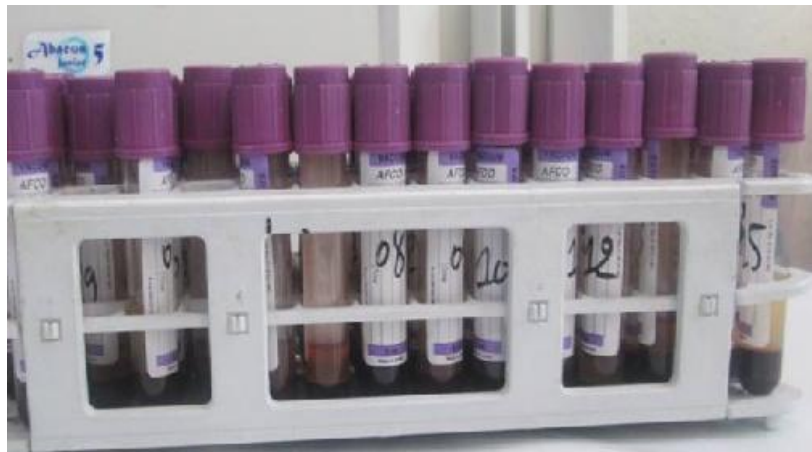


Photo 3: les tubes de prélèvement

b) Matériel :

La numération formule sanguine est effectuée sur l'appareil sysmex XT-1800i qui est un analyseur automatique d'hématologie utilisé pour les diagnostics in vitro en laboratoires cliniques. Elle est capable d'analyser et de livrer les résultats de 21 paramètres d'un échantillon sanguin.

i. Principe

L'appareil XT-1800i réalise l'analyse du nombre total des leucocytes en utilisant un bloc détecteur photosensible dont le fonctionnement repose sur la méthode de cytométrie de flux et l'utilisation d'un laser à semi-conducteur. Les taux d'érythrocytes et de plaquettes sont analysés par le compteur GR qui emploie la méthode de focalisation hydrodynamique. L'hémoglobine est analysée par le

compteur HGB sur la base de la méthode spectrophotométrie. Elle fournit des résultats pour les paramètres suivantes: GR, HBG, HCT, VGM, TCMH, CCMH, IDR-CV, PLQ, VPM, GB, NEUT, LYMPH, MONO, EO, BASO...

ii. Mode d'analyse

En mode manuel, après que les échantillons aient été agités manuellement, les bouchons des tubes sont retirés à la main et l'échantillon est aspiré via l'aiguille d'aspiration de sang total.

iii. Les réactifs

Le tableau suivant résume les différents réactifs utilisés par l'appareil sysmex XT-1800i et leurs rôles :

Tableau III : les réactifs utilisés par l'automate

Nom du réactif	Rôle
CELLPACK	Diluant sert à nettoyer l'aiguille après l'aspiration d'un échantillon.
STROMATOLYSER-FB	Réactif lytique destiné à l'analyse des leucocytes et des BASO d'un échantillon sanguin.
STROMATOLYSER-4DL	Diluant d'une partie du sang total après l'aspiration.
STROMATOLYSER- 4DS	Colorant qui colore les leucocytes des échantillons de sang lysés et détermine la formule de quatre populations (LYMPH, MONO, EO, NEUT, BASO).
SULFOLYSER	Réactif qui lyse les érythrocytes et agit sur la globine de l'HBG pour former un complexe stable.
RET SEARCH (diluant) RET SEARCH (colorant)	Diluant de l'échantillon et colore en même temps les réticulocytes, pour déterminer la concentration sanguine en réticulocytes effectuée sur l'appareil.
CELLCLEAN	Détergent alcalin puissant qui supprime les réactifs lytiques, les résidus cellulaires et les protéines sanguines restées dans l'automate.



Photo 4: L'appareil XT-1800i

2. Frottis sanguin

a) Matériel :

- Lames de verre, propres, dégraissées et sèches, destinées à supporter le frottis.
- Lames rodées, lavées, rectangulaires permettant l'étalement du sang.
- Colorant de May-Grunwald neutre (l'éosine + le bleu de méthylène).
- Colorant de Giemsa neutre (l'éosine + le bleu de méthylène).

b) Mode opératoire :

i) Préparation du frottis sanguin

On dépose une petite goutte de sang à un centimètre à l'une des extrémités d'une lame propre posée horizontalement. Puis, on place le bord de la lame rodée sur la lame et on fait glisser celle-ci jusqu'à ce qu'elle entre au contact avec la goutte, La goutte s'étale le long de l'arête par capillarité puis, on pousse dans un mouvement uniforme vers l'autre extrémité de la lame sans atteindre celle-ci. Le frottis ainsi réalisé est séché rapidement par agitation à l'air. Il ne faut pas oublier de noter l'identité du patient (N°) avec un crayon sur la tête du frottis.

Un frottis de qualité doit respecter les critères suivants :

- Il doit posséder une tête, un corps et une queue.
- Il ne doit être ni trop mince (pauvre en éléments), ni trop épais (éléments rétractés non identifiables).
- Il ne doit atteindre ni les bords, ni les extrémités de la lame (les éléments les plus volumineux seront perdus).
- Il doit être correctement séché.
- Il ne doit pas présenter de stries ou des trous.

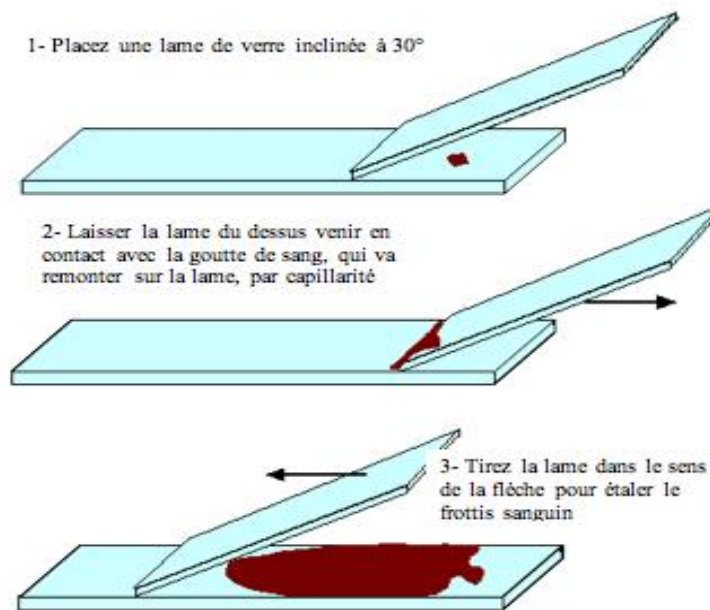


Photo2: Réalisation de frottis sanguin

ii) Coloration du frottis

- On trempe le frottis dans un back contenant le May Grunwald pur pendant 3 à 5 minutes.
- On sort le frottis et on le trempe dans un back contenant l'eau tamponnée PH=7 pendant 2 à 3 minutes.
- Ensuite on le trempe dans un back contenant la solution de Giemsa, préalablement diluée au 1/10 dans l'eau tamponnée, pendant 20 à 30 minutes.
- Enfin le frottis est mis dans un back rempli d'eau tamponnée pendant 2 à 3 minutes.
- Les lames colorées sont égouttées et séchées à l'air libre. Il faut attendre au moins 5 minutes avant de les lire.

Au terme de ces étapes, le frottis sanguin est prêt à être étudié au microscope optique.

ii. Étude du frottis sanguin

Pour déterminer la répartition des cellules, la qualité de l'étalement et de la coloration, il faut tout d'abord contrôler le frottis au grossissement (objectif $\times 10$). Si la répartition est jugée satisfaisante, on dépose une petite goutte d'huile à immersion sur la queue de l'étalement, puis on met en place l'objectif $\times 100$.

La répartition des cellules n'est pas parfaitement égale, les éléments les plus petits tels que les lymphocytes se regroupent au centre du frottis, les plus volumineux (polynucléaires et monocytes) sont entraînés dans les franges et la queue. Les hématies doivent être étalées en couche monocellulaire ; leurs contours doivent être réguliers et leur coloration rose.

3) le groupage sanguin

a.les conditions de prélèvement

- Il n'est pas indispensable d'être à jeun.
- L'identité correcte du patient, ainsi que sa date de naissance, doivent impérativement être notées.
- Pour l'établissement d'une carte définitive de groupe sanguin, deux prélèvements doivent être réalisés par deux techniques différentes avec deux lots de réactifs différents

b. Matériel

- tubes de prélèvement contenant le sang
- les anticorps A, B, AB, D
- une plaque

e. Mode opératoire : (méthode globulaire)

- On a déposé 4 gouttes de sang sur une plaque.
- On a ajouté une goutte de sérum : anti A à la première goutte, anti B à la 2^{ème} goutte, Anti AB à la 3^{ème} goutte et une goutte de sérum anti D à la 4^{ème} goutte.
- On a mélangé les gouttes.
- On a imprimé un mouvement de rotation à la plaque
- On a déterminé par la suite le groupe et le rhésus en observant la réaction d'agglutination avec les agglutinines correspondantes.

4) Taux de prothrombine (TP) ou le temps de quick (TQ)

a) le prélèvement

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse franche chez un sujet à jeun (cette précaution n'est pas toujours nécessaire) sur citrate tri sodique (31,3 g/l) en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour quatre volumes de sang (la couleur du bouchon est normalisée en fonction de l'anticoagulant, en l'occurrence, le bleu ciel). On centrifuge le tube à 4000 tours/minutes pendant 15 minutes environ pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le test devra être effectué dans un délai n'excédant pas 4 heures au plus après le prélèvement.

b) Matériel :

- Centrifugeuse.
- Bain-marie
- Micropipettes réglables
- Chronomètre.
- Plasma pauvre en plaquettes.
- Thromboplastine calcique.



Photo 5: Matériel utilisés pour le TP

c) Mode opératoire :

Dans un tube en verre, au bain-marie à 37°C : 100 µl de plasma attendre 2 minutes, puis on ajoute 200 µl de thromboplastine calcique préalablement incubée 15 minutes à 37°C, ce dernier doit être ajouté au plasma en déclenchant le chronomètre. Détecter l'apparition d'un caillot à l'aide d'un crochet, ou par inclinaison du tube et arrêter le chronomètre dès qu'il y a coagulation.

Il faut toujours réaliser, en parallèle un temps de quick sur un plasma témoin normal.

5) Le temps de Céphaline active (TCA) ou le temps de céphaline kaolin (TCK) :

a) prélèvement

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse franche sur citrate tri sodique (31,3 g/l), en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour quatre volumes de sang (la couleur du bouchon est normalisée en fonction de l'anticoagulant, en l'occurrence, le bleu ciel), on centrifuge le tube à 4000 tours/minutes pendant 15 minutes environ pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.

b) Matériel :

- Centrifugeuse.
- Bain-marie.
- Micropipettes réglables (50- 200 µl).
- Chronomètre.
- Plasma pauvre en plaquettes obtenu par centrifugation de sang prélevé sur citrate.
- Réactif céphaline-kaolin.
- Solution de chlorure de calcium (CaCl_2) à 0,025 mol/l.

c) Mode opératoire :

Introduire dans un tube en verre placé dans un bain marie à 37°C : 100 µl de plasma + 100 µl de réactif (céphaline-kaolin), mélanger et incuber exactement pendant 3 minutes. En déclenchant le chronomètre, ajouter 100 µl de la solution de CaCl_2 (0,025 M), mélanger puis noter le temps de coagulation. Il faut toujours réaliser un TCK en parallèle sur un plasma témoin normal.

6) La vitesse de sédimentation (technique de westergreen) :

a) Prélèvement

La vitesse de sédimentation est réalisée classiquement chez un patient à jeun (cette condition n'est pas toujours nécessaire), le prélèvement est fait sur du sang veineux recueilli sur une solution de citrate tri sodique (31,3 g/l) en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour neuf volumes de sang (la couleur du bouchon est normalisée en fonction de l'anticoagulant, en l'occurrence, le noir).

b) Matériel

- Tubes de westergreen (tubes de diamètre 2,5mm gradués en millimètres de 0 en haut à 200 en bas, ils sont ouverts aux deux extrémités et positionnés verticalement dans un support spécial).
- Support spécial à sédimentation pour VS.
- Le réactif de citrate tri sodique.

c) Mode opératoire :

Après une homogénéisation soignée du prélèvement, il faut aspirer le sang citraté dans le tube de westergreen jusqu'au repère zéro, tout en évitant la formation de bulles d'air. Puis, on place le tube bien vertical sur son support. Après 1 heure, on lit la hauteur du plasma surnageant depuis la base du ménisque supérieure jusqu'au sommet de la colonne d'hématies.



Photo 6: les tubes de westergreen

PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Exemple de l'hémogramme

Le tableau suivant montre un exemple d'un hémogramme chez un patient normal :

Tableau IV : Hémogramme d'un patient normal

ROYAUME DU MAROC
MINISTERE DE LA SANTE
HOPITAL 20 AOUT_AZROU
LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE

15/05/2015 09 :39 :32
N°Echant:02/YASSINE
Sexe :
Naissance :

HEMOGRAMME (SYSMEX XT-1800)

Résultats	valeurs normales :					
	Unité	N.né	enfant	femme	homme	
GR	5.32 [10 ⁶ /μl]	[5-6]	[3.6-5.5]	[4.8-5.8]	[4.5-6.2]	
HGB	15.1 [g/dl]	[14-20]	[11.5-16]	[11.5-16.5]	[13-18]	
HCT	49.0 [%]	[45-60]	[37-45]	[35-47]	[40-54]	
VGM	92.1 [fl]	[90-120]	[70-86]	[76-96]	[80-96]	
TCMH	28.4 [pg]	[30-34]	[24-30]	[27-32]	[27-32]	
CCMH	30.8 [g/dl]	[32-36]	[32-36]	[32-36]	[32-36]	
PLQ	231 [10 ³ /μl]	[150-450]	[150-450]	[150-450]	[150-450]	
GB	6.87 [10 ³ /μl]	[15-25]	[4-15]	[4-10.7]	[4-10.7]	
NEUT	41.1 [%]	2.82 [10 ³ /μl]	[8-12]	[2-6]	[2-7.5]	[2-7.5]
LYMPH	49.8 [%]	3.42 [10 ³ /μl]	[5-6]	[3.5-8]	[1.5-4]	[1.5-4]
MONO	8.3 [%]	0.57 [10 ³ /μl]	[0.1-1]	[0.7-1.5]	[0.1-1.2]	[0.1-1.2]
EO	0.7 [%]	0.05 [10 ³ /μl]	[0.05-0.3]	[0.03-0.8]	[0-0.4]	[0-0.4]
BASO	0.1 [%]	0.01 [10 ³ /μl]	[0.01-0.05]	[0-0.5]	[0-0.2]	[0-0.2]

De très nombreux renseignements peuvent être obtenus à partir des résultats d'un hémogramme. Dans tous les cas, ces résultats varient en fonction du sexe, âge, altitude, exercice physique...

Les principaux renseignements sont les suivants:

- Une anémie est définie par un taux bas d'hémoglobine; à l'inverse, une augmentation du taux d'hémoglobine définit une polyglobulie.
- Une augmentation des globules blancs (hyperleucocytose) peut évoquer une infection, une inflammation, voire une hémopathie (cancer du sang); une diminution des globules blancs (leucopénie) peut révéler une altération des défenses immunitaires.
- Une augmentation des plaquettes définit une hyperplaquettose (ou thrombocytose) souvent observée au cours de processus inflammatoires, syndrome myéloprolifératif chronique ou dans le cas d'une splénectomie (ablation de la rate) une baisse des plaquettes (thrombopénie) traduit un risque hémorragique, une aplasie médullaire, ou un arrêt de maturation des plaquettes grâce à une carence en acide folique et/ou en vitamine B12.

La formule leucocytaire peut montrer:

- Une augmentation des polynucléaires neutrophiles reflétant le plus souvent un processus infectieux en cours.
- Une augmentation des polynucléaires éosinophiles, évocatrice d'une allergie ou d'une infection par un parasite.
- Une augmentation des polynucléaires basophiles se rencontre dans certaines leucémies, les allergies et les problèmes thyroïdiens.
- Une augmentation des lymphocytes signent l'existence des infections virales et bactériennes alors qu'une baisse des lymphocytes suggérant par exemple l'existence d'un déficit immunitaire ou d'une infection par le virus du SIDA.
- Une augmentation des monocytes s'observe lors des infections bactériennes, virales, et parasitaires.

Les constantes érythrocytaires peuvent montrer également :

- L'hématocrite (HCT) est abaissé dans les anémies, et augmenté en particulier chez les consommateurs d'érythropoïétine.
- Le volume globulaire moyen (VGM) mesure la taille moyenne du globule rouge, un VGM supérieur à la normale signe une macrocytose alors qu'un VGM inférieur à la normale traduit une microcytose.
- Le taux corpusculaire moyen d'hémoglobine (TCMH), et la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH) n'ont pas d'intérêt diagnostique sauf qu'une diminution de TCMH confirme une hypochromie (manque de fer).

[Tableau V : Hémogramme d'un sujet ayant une anémie et thrombopénie](#)

HEMOGRAMME (SYSMEX XT-1800)

Résultats		valeurs normales :			
Unité		N.né	enfant	femme	homme
GR	2,13 [10 ⁶ /μl]	[5-6]	[3.6-5.5]	[4.8-5.8]	[4.5-6.2]
HBG	6,00 [g/dl]	[14-20]	[11.5-16]	[11.5-16.5]	[13-18]
HCT	17,8 [%]	[45-60]	[37-45]	[35-47]	[40-54]
VGM	90.1 [fl]	[90-120]	[70-86]	[76-96]	[80-96]
TCMH	29.4 [pg]	[30-34]	[24-30]	[27-32]	[27-32]
CCMH	33.8 [g/dl]	[32-36]	[32-36]	[32-36]	[32-36]
PLQ	25 [10 ³ /μl]	[150-450]	[150-450]	[150-450]	[150-450]
GB	7.87 [10 ³ /μl]	[15-25]	[4-15]	[4-10.7]	[4-10.7]
NEUT	41.1 [%]	3.82 [10 ³ /μl]	[8-12]	[2-6]	[2-7.5]
LYMPH	49.8 [%]	2.42 [10 ³ /μl]	[5-6]	[3.5-8]	[1.5-4]
MONO	8.3 [%]	0.55 [10 ³ /μl]	[0.1-1]	[0.7-1.5]	[0.1-1.2]
EO	0.7 [%]	0.03 [10 ³ /μl]	[0.05-0.3]	[0.03-0.8]	[0-0.4]
BASO	0.1 [%]	0.01 [10 ³ /μl]	[0.01-0.05]	[0-0.5]	[0-0.2]

❖ Interpretation:

On remarque d'après le tableau V, que pour les GR, HBG, HCT et les PLQ cette personne a des valeurs basses par rapport à la normale. En effet son hémogramme montre un taux de HBG de 6,00 g/dl, alors que les valeurs normaux sont entre 13 g/dl et 18 g/dl ; ce qui démontre que le taux des HBG est très inférieur à la normale donc ce sujet présente une anémie. Les plaquettes présentent un taux de 25 10³/μl alors qu'il devrait normalement avoir une valeur comprise entre 150 10³/μl et 450 10³/μl donc ce sujet présente une thrombopénie.

L'anémie se caractérise par une diminution d'hémoglobine qui est un constituant essentiel des globules rouges responsable du transport de l'O₂ vers les tissus du corps. La diminution de l'hémoglobine a pour conséquence de réduire la quantité d'O₂ distribuée aux tissus. Le manque d'O₂ dans les tissus peut entraîner une asphyxie puis la mort. Cet individu présente une forte

anémie, il est nécessaire de faire soit une transfusion de globules rouges soit une prise de l'érythropoïétine qui va permettre à la moelle osseuse de fabriquer plus de globules rouges qu'à l'ordinaire.

Les plaquettes permettent au sang de coaguler, c'est-à-dire qu'elles permettent au sang de former un caillot lors d'une blessure. Mais, ce malade a une sévère thrombopénie donc il a un risque d'hémorragie grave avec des saignements prolongés dans ce cas une transfusion de plaquettes est également nécessaire.

Par ailleurs, en ce qui concerne les autres paramètres tels que le VGM (90,1fl), la TCMH (29,4 pg) et le CCMH (33,8 g/dl) sont présents avec des taux normaux. En effet, la TCMH ou le CCMH n'ont pas d'intérêt diagnostique.

2) les résultats de frottis sanguin

L'observation du frottis sanguin coloré permet dans certains cas de déceler d'éventuelles anomalies de taille, forme, coloration des hématies ou les autres cellules sanguines.

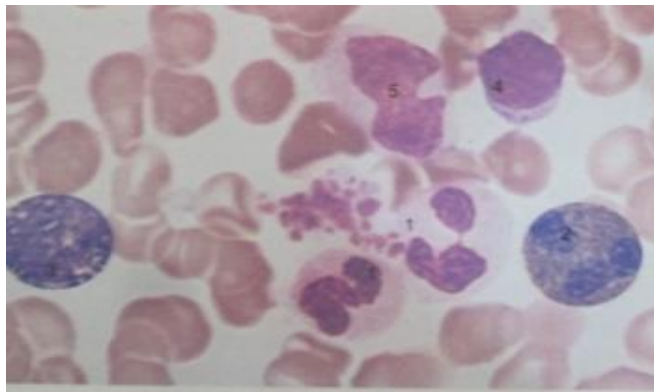


Photo 7 : Frottis sanguin chez un individu normal

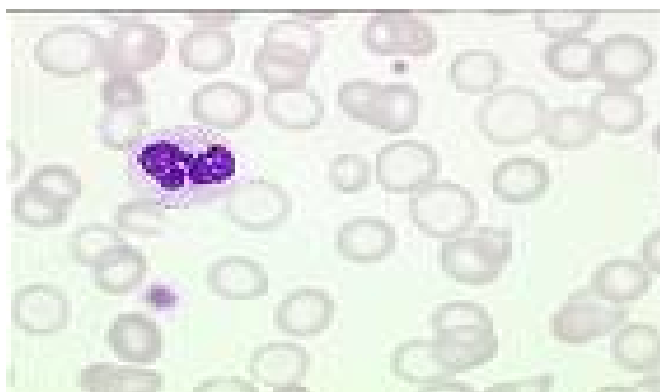


Photo 8 : Frottis sanguin d'un individu atteint d'une anémie microcytaire hypochrome

La photo 7 montre que les globules rouges présentent une taille inférieure par rapport aux globules rouges de la photo 6. Ces globules rouges sont également moins colorés que les normaux. La

coloration des globules rouges est due à l'hémoglobine présente dans ces cellules. Le manque d'hémoglobine dans le sang de patient de la photo 7 a donné des hématies hypochromes. Cette anémie microcytaire Hypochrome peut être due à une carence en fer qui est un constituant de l'hémoglobine.

3) les résultats de groupage sanguin

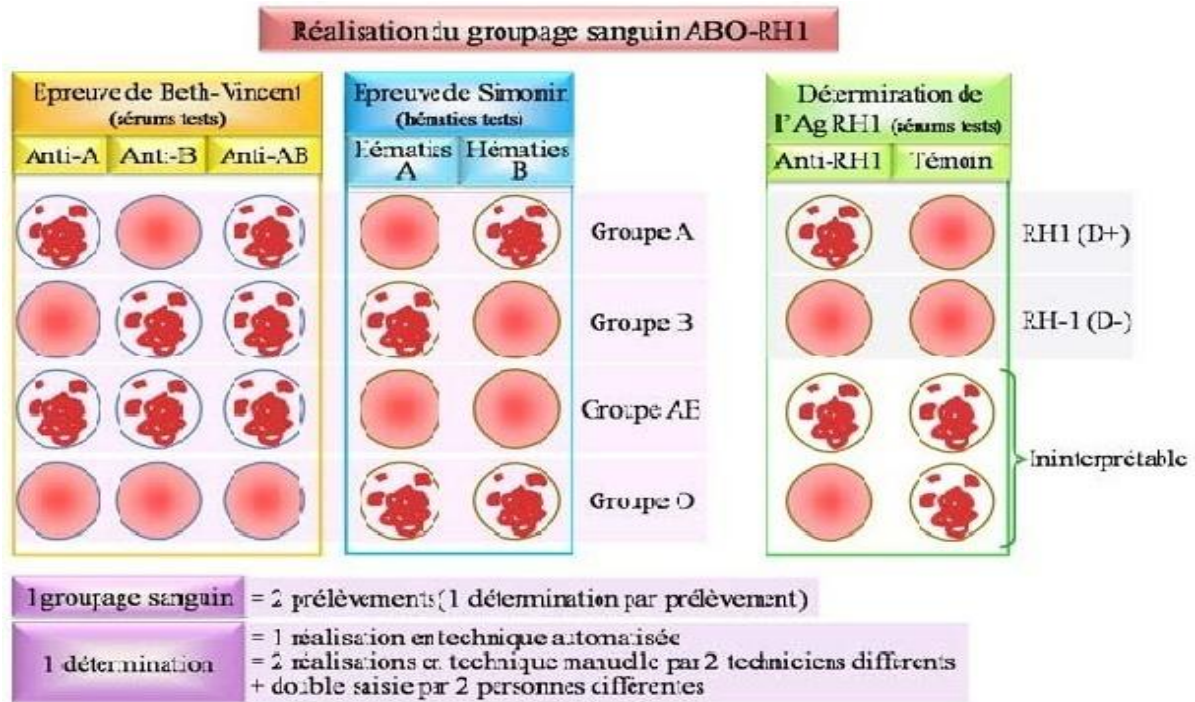


Figure 3: Réalisation du groupage sanguin ABO-RH

Les systèmes ABO et Rhésus sont les plus importants à déterminer dans le cadre de transfusions sanguines afin de respecter les règles de compatibilité. En effet, la transfusion de produit sanguin d'un donneur non compatible avec le groupe sanguin du receveur peut entraîner des accidents transfusionnels dramatiques. C'est pourquoi la détermination du groupe sanguin est si importante et nécessite au moins 2 déterminations avant la délivrance d'une carte.

La détermination dans le système Rhésus est également importante chez la femme enceinte afin d'envisager un éventuel risque d'immunisation contre le groupe Rhésus du bébé lors de l'accouchement.



4) les résultats de TP

Le temps de Quick s'exprime par comparaison à un témoin. Il varie entre 11 et 13 secondes. Habituellement, on exprime le temps de quick en pourcentage par rapport à un plasma normal, on l'appelle alors taux de prothrombine (TP) qui varie entre 70 et 100%.

❖ Interprétation :

Les taux supérieurs à 100% n'ont pas de signification pathologique et sont considérés comme normaux, par contre les taux inférieures à 70% peuvent orienter vers :

- un déficit en facteurs II, V, VII ou X.
- une atteinte hépatique ou une avitaminose K.
- maladie hémorragique du nouveau né.
- consommation excessive (coagulation intra vasculaire).
- une hypofibrinogénémie.
- un traitement anticoagulant par les antivitamines K.
- la présence d'anticoagulants circulants (anti II, V, VII, X) ou antiprothrombinase.

Au cours des traitements anticoagulants oraux (antivitamines K), la zone thérapeutique du TP varie en fonction des réactifs utilisés, il est actuellement proposé d'exprimer les résultats en INR (International Normalised Ratio) qui tient compte des différences de réactifs et permet de standardiser les résultats grâce à l'introduction d'un coefficient qui sera fourni par chaque fabricant de réactif.

$$R = \text{temps du malade} / \text{temps du témoin} \quad \text{INR} = R^{\text{isi}}$$

Avec isi : index de sensibilité international déterminé vis-à-vis de la thromboplastine de référence, il est donné par le fabricant.

5) les résultats de TCA

Le TCA normal se situe aux environs de 30 à 40 secondes selon les réactifs utilisés, on considère qu'un TCK est allongé chez un malade si l'écart avec le témoin dépasse 8 à 10 secondes. Un temps inférieur à celui du témoin n'a habituellement pas une signification pathologique. D'une façon générale le TCK est allongé lorsque le rapport TCK du malade/TCK témoin est supérieur à 1,2.

❖ Interprétation :

L'allongement du TCA est interprété en fonction des résultats du TQ.

TCA allongé et temps de Quick normal

Cliniquement, devant un syndrome hémorragique, on recherchera un déficit de certains facteurs de la coagulation de la voie endogène.

- Si l'allongement du TCA est corrigé par l'addition de plasma témoin normal à parties égales, on recherchera alors un déficit éventuel respectivement en facteur anti hémophilique A (VIII), anti hémophilique B (IX) et en facteur (XI) ; car les hémophilies A ou B représentent la grande majorité des déficits congénitaux de la voie intrinsèque.
- Si l'allongement du TCA n'est pas corrigé par l'addition de plasma témoin normal à parties égales, on recherchera un anticorps anticoagulant circulant.
En absence d'un syndrome hémorragique, on recherchera un déficit en facteur XII, kininogènes...

TCA allongé et temps de Quick allongé

- Insuffisance hépatique sévère.
- Coagulopathie de consommation.
- Afibrinogénémie congénitale.

Tableau VI : Résultat d'une femme enceinte sous AVK

Paramètre	Valeur	Référence
TP (%)	35	70 à 100
TCK (secondes)	37	30 à 40

D'après les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus, on remarque :

- Un temps de céphaline active normal (37 secondes) car il est compris entre 30 et 40 secondes.
- Un temps de prothrombine abaissé, (35%) car il est inférieur à la limite inférieure de la normale ; ce résultat est compatible avec les données cliniques, la patiente est sous AVK.

Selon la littérature les AVK ont un effet inhibiteur de la coagulation et donc ils empêchent la formation de la thrombine et par conséquent un taux abaissé de TP.

Dans ce cas, on doit calculer l'INR :

- Si $2 < \text{INR} < 3$ c'est une valeur normale.
- Si $\text{INR} < 2$ il faut augmenter la dose des AVK.
- Si $\text{INR} > 3$ il faut diminuer la dose des AVK.

6) les résultats de VS

Le résultat est exprimé en mm/h, ce qui correspond à la distance parcourue par les globules rouges en une heure. Il n'est pas utile de poursuivre la lecture plus longtemps, le résultat obtenu au bout d'une heure est largement suffisant. La valeur de VS varie avec l'âge et le sexe :

Homme	3 à 15 mm/h
Femme	7 à 20 mm/h
Enfant	0 à 10 mm/h

❖ Interprétation :

Concernant l'interprétation de la vitesse de sédimentation, il faut savoir que c'est un test non spécifique, imprécis et indiqué surtout dans la surveillance de l'évolution d'une affection à composante inflammatoire. L'élévation de la vitesse de sédimentation n'est pas toujours due à l'augmentation des protéines de l'inflammation, mais peut être provoquée par d'autres mécanismes :

- Facteurs globulaires (anémie).
- Hyperlipoprotéïnémie.
- Maladies rhumatismales.
- La grossesse.

Par ailleurs, plusieurs facteurs vont faire varier la VS malgré l'existence d'un processus inflammatoire comme des causes techniques (non verticalité du tube ; erreur de dilution, allongement du temps de sédimentation), des facteurs globulaires (drépanocytose, polyglobulie), ou consommation du fibrinogène...

PARTIE IV : CONCLUSION GÉNÉRALE

Les analyses médicales en hématologie sont des examens de laboratoire destinés à faciliter le diagnostic médical, le traitement ou la prophylaxie des maladies humaines. Différents types d'analyses médicales sont actuellement réalisés dans le laboratoire, il s'agit des analyses sérologiques ou encore biochimiques. Les progrès technologiques ont permis l'apparition des automates de mesure permettant la réalisation d'une quantité importante d'analyses en un temps limité. Ainsi que la réduction des erreurs causées par les dilutions manuelles et la lecture optique ; de plus une parfaite reproductibilité des résultats. Le laboratoire d'analyses médicales de CHP d'Ifrane doté de ce type d'appareils. Cependant des dosages classiques manuels sont encore appliqués à l'hôpital.

Le stage que j'ai effectué au sein de laboratoire d'analyses médicales a été très enrichissant, il m'a permis tout de montrer mes capacités à s'intégrer dans un travail d'équipe, il m'a offert une vision proche de la réalité du monde de la santé. Ce stage m'a également permis d'améliorer mes connaissances pratiques et de faire le lien entre la théorie acquise à la faculté et l'application dans le milieu professionnel. J'ai pris ainsi connaissance des protocoles expérimentaux pour la réalisation des analyses ; mais aussi du matériel nécessaire pour la réalisation de ces analyses et de l'interprétation des résultats.

PARTIE V : LES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Manuel du ministère de la santé :

- Sultan C., 1986. Hématologie: Eléments de diagnostic pratique. Documentation Scientifique lab. Roland. Marie S.a..
- Boneu B. et Cazenave J. B., 1982. Introduction à l'étude de l'hémostase et de la thrombose.
- J. Chiaroni. les bonnes pratiques d'immuno-hématologie clinique. La transfusion clinique et biologique, 2003 ; 10(3) :244_251
- XT-2000i/XT-1800i analyseur automatique d'hématologie mode d'emploi société méga-flex.

Les illustrations sont empruntées de :

- Sultan C., 1978. Les examens de laboratoire. Techniques en hématologie. Ed. Flammarion, Médecines-Sciences.

Sites web :

- www.santé.public.lu/fr/maladies-traitements/020examens/analyses-biologiques/numeration-formule-sanguine-nfs.hemogramme/ir.
- [http : //www.analyses médicales- doctissimo](http://www.analyses_médicales-doctissimo).