



Université Sidi Mohamed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques, Fès



Rapport de stage de Projet Fin d'Etude (PFE)

Licence Sciences et Technique : Biologie et Santé.

*Les tests hématologiques,
sérologiques, effectués au sein du
laboratoire du centre hospitalier EL
GHASSANI de Fès*

Réalisé par :

SELOUAN Fatima Zahrae

Encadré par :

***Prof OMAR EL FARRICHA (FST-Fès)**

***Dr. NABIL HANKARI (Hôpital EL GHASSANI)**

Membre du jury : **-Dr N. HANKARI**

-Pr O. EL FARRICHA

-Pr J. EL YAMANI

Année Universitaire : 2013-2014

Sommaire

DEDICACE.....	
Remerciements.....	
I. Présentation de la structure d'accueil.....	1
II. Introduction.....	2
III. Matériel et Méthodes.....	3
1. Tests effectués au sein du Service d'hématologie.....	3
1.1 Numération Formule Sanguine (NFS).....	3
1.1.1 Globules Rouges (GR).....	4
1.1.2 Hémoglobine (Hb).....	5
1.1.3 Hématocrite (HCT).....	6
1.1.4 Les constantes érythrocytaires.....	6
1.1.5 Les plaquettes.....	7
1.1.6 Globules Blancs (GB).....	8
1.2 Le taux de prothrombine et le temps de céphaline activée.....	9
1.2.1 Le taux de prothrombine (TP) ou le temps de Quick (TQ).....	9
1.2.2 Le temps de céphaline activée (TCA) ou le temps de céphaline kaolin (TCK)	11
1.3 Vitesse de sédimentation (VS).....	12
2. Tests effectués au sein du Service de sérologie.....	13
2.1 Toxoplasmose (TOXO IgGII).....	13
2.2 Rubéole (RUBIgGII).....	15
2.3 Hépatite B (HBs Ag).....	15
2.4 Hépatite C (Anti HCV).....	16
2.5 Veneral disease research laboratory (VDRL).....	18
2.6 Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA).....	19
2.7 Anti-streptolysineO (ASLO).....	21
2.8 C-reactive protein (CRP).....	22
2.9 Taux d'antigène spécifique de la prostate (TPSA).....	23
2.10 Dosage des hormones libres FT3, FT4 et TSH.....	24
IV. Résultats et discussion.....	26
V. Conclusion.....	35
Bibliographie.....	36

REMERCIEMENTS

Je tiens tout particulièrement à remercier le personnel médical pour leur accueil chaleureux, ainsi que le directeur du Centre hospitalier EL GHASSANI, de m'avoir accepté en tant que stagiaire au sein de leur établissement.

Je remercie de même, mes professeurs, et plus précisément prof. OMAR EL FARRICHA pour leurs confiances et conseils concernant l'élaboration de ce rapport.

Je remercie également les techniciens du laboratoire, ainsi Dr chef NABIL HANKARI ET Dr ALAOUI, pour leur soutien technique, et pour le temps qu'ils m'ont consacré toute au long de cette période, sachant répondre à mes interrogations.

D'une façon plus générale, je remercie ma famille, et mes camarades du groupe pour leur collaboration et leur appui le long de mon stage.

La liste des abréviations

- aN : anormale.
- Anti HCV : Hépatite C.
- ASLO : Anti-streptolysine O.
- CCMH : La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.
- CMF : Cytométrie de flux.
- CRP : C-reactive protein.
- D, Diff : Numération Sanguine Différentielle.
- EDTA : Enzyme Linked Fluorescent Assay.
- FT3 : 3-5-5', Tri-iodothyronine.
- FT4 : 3-5-3'-5', Tétrai-iodothyronine (Thyroxine).
- GB : Globules Blancs.
- GR : Globules Rouges.
- Hb : Hémoglobine.
- HBs Ag Ultra : Hépatite B.
- HCT : Hématocrite.
- IDPP : Indice de Distribution des Plaquettes
- IDR-CV : Indice de Distribution des GR, Coefficient de Variation.
- IDR-SD : Indice de Distribution des GR, Ecart Standard.
- INR : International Normalised Ratio.
- ISI : Index de Sensibilité International.
- N : Normale.
- NFS : Numération de formule sanguine ou hémogramme.
- N.nés : Nouveau-né.
- PN : Les polynucléaires.
- P-RGC : Proportion des Grandes Plaquettes.
- RUBIgGII : Rubéole.
- TCA ou TCK : Le temps de céphaline activée ou le temps de céphaline kaolin.
- TCMH : La Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.
- TOXO IgGII : Toxoplasmose.
- TP ou TQ : Le taux de prothrombine ou le temps de Quick.
- TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutination Assay.
- TPSA : Taux d'antigène spécifique de la prostate.
- TSH : la thyroestimuline.
- TRH : Protiréline.
- VDRL : Venereal Disease Research Laboratory.
- VGM : Le Volume Globulaire Moyen.
- VS : Vitesse de sédimentation.

La liste des figures

Figure 1 : Organigramme de l'hôpital EL GHASSANI	1
Figure 2 : le principe de la cytométrie de flux	4
Figure 3 : schéma d'activation de la coagulation in vitro	9
Figure 4 : tests demandés en fonction des tests réalisés	27
Figure 5 : tests anormaux obtenus en fonction du sexe	28
Figure 6 : tests demandés en NFS en fonction de l'âge	30
Figure 7 : tests demandés en TP et TCK en fonction de l'âge	30
Figure 8: tests demandés en VS en fonction de l'âge	30
Figure 9 : tests demandés en TOX et BUB en fonction de l'âge (adultes)	31
Figure 10: tests demandés en HBs en fonction de l'âge	31
Figure 11: tests demandés en HCV en fonction de l'âge	31
Figure 12: tests demandés en VDRL et TPHA en fonction de l'âge	32
Figure 13: tests demandés en ASLO en fonction de l'âge	32
Figure 14: tests demandés en CRP en fonction de l'âge	32
Figure 15: tests demandés en TPSA en fonction de l'âge	33
Figure 16: tests demandés en FT3, FT4 en fonction de l'âge	33

La liste des tableaux

Tableau 1 : les analyses effectuées, la couleur du tube et l'anticoagulant utilisé.....	3
Tableau 2 : les valeurs normales en Globules Rouges.....	5
Tableau 3 : les valeurs physiopathologiques des Globules Rouges.....	5
Tableau 4: les valeurs normales du taux d'Hémoglobine.....	5
Tableau 5 : les valeurs normales d'Hématocrite.....	6
Tableau 6 : Variations physiopathologiques d'Hématocrite.....	6
Tableau 7 : les variations physiopathologiques du taux des plaquettes.....	7
Tableau 8 : les variations physiopathologiques des Globules Blancs.	8
Tableau 9 : Les variations physiopathologiques du taux de prothrombine.	10
Tableau 10 : les valeurs normales de la vitesse de sédimentation.	12
Tableau 11 : les variations physiopathologiques de la vitesse de sédimentation.	12
Tableau 12 : Valeurs normales et pathologiques de TOXOIgG II	14
Tableau 13: Valeurs normales et pathologiques de RUBIgG II.	15
Tableau 14 : Le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test HBs Ag Ultra.....	16
Tableau 15 : valeurs normales et pathologiques du taux en HBs Ag Ultra	16
Tableau 16 : le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test Anti-HCV	17
Tableau 17 : valeurs normales et pathologiques du taux d'Anti-HCV.....	17
Tableau 18 : résultats de la réaction qualitative de Veneral disease research laboratory.	19
Tableau 19 : résultats de la réaction qualitative de Treponema pallidum hemagglutination assay.	20
Tableau 20 : résultats obtenus après la réalisation du test Anti-streptolysineO	22
Tableau 21: résultats obtenus après la réalisation du test C-Réactive Protein.....	23
Tableau 22 : le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test de Taux d'antigène spécifique de la prostate	24
Tableau 23 : valeurs normales et pathologiques du taux en Taux d'antigène spécifique de la prostate.....	24
Tableau 24 : les temps et les volumes nécessaires pour la réaction des tests FT3, FT4 et TSH	25
Tableau 25 : valeurs normales et pathologiques des titres en FT3, FT4, et TSH.	25
Tableau 26 : les résultats des tests hématologiques et sérologiques effectués au laboratoire.	26
Tableau 27: les tests demandés dans le laboratoire	27
Tableau 28 : les résultats des analyses obtenues en fonction du sexe.	29
Tableau 29: les résultats des tests obtenues en fonction de l'âge.	34

I. Présentation de la structure d'accueil

Le centre hospitalier EL GHASSANI situé à Dhar el Mahraz Fès- 30000

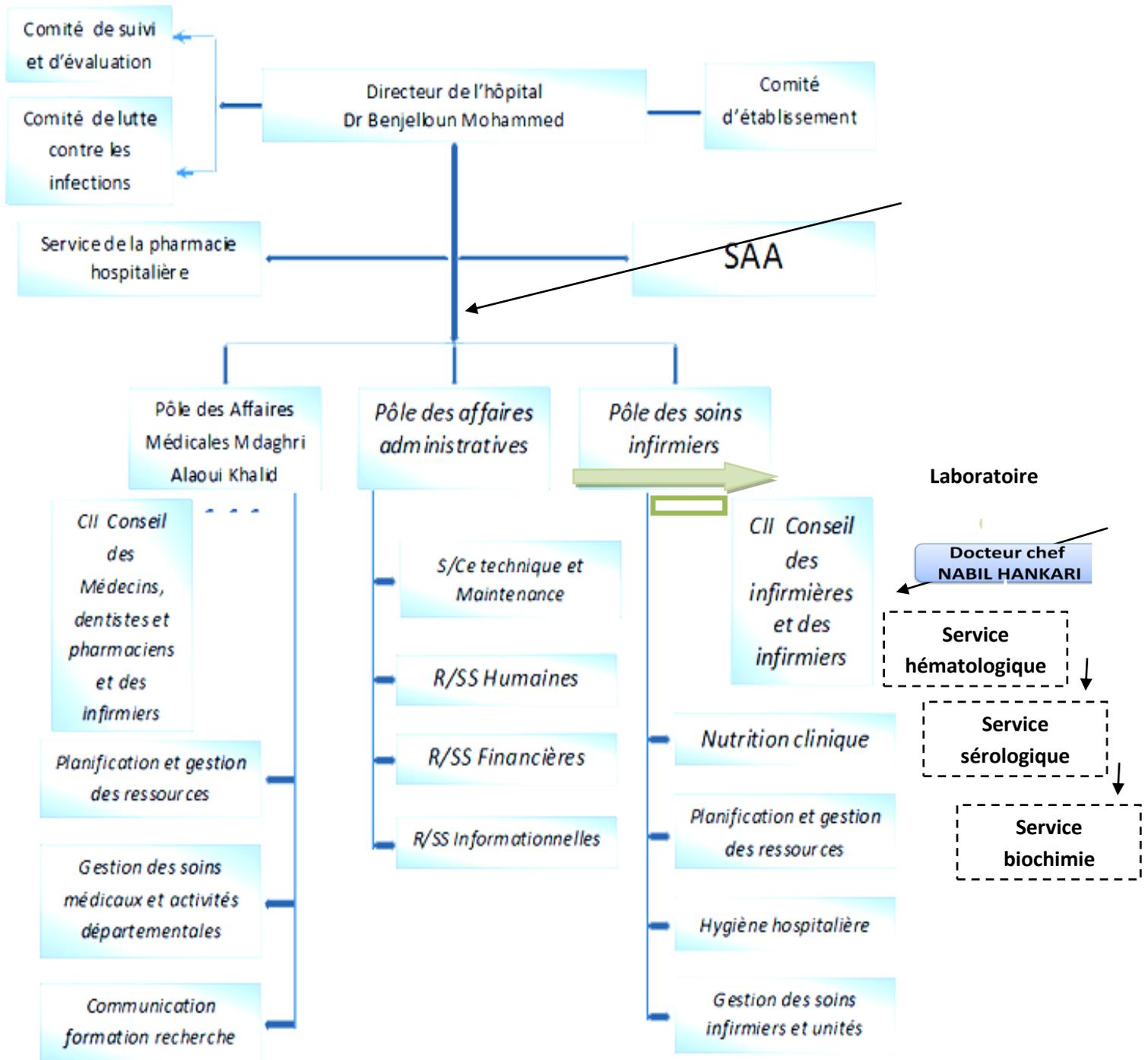


Figure 1 : Organigramme de l'hôpital EL GHASSANI.

INTRODUCTION

Afin de clôturer mes trois années d'études en biologie, j'ai préparé un rapport de stage de fin d'étude en analyse médicale, dont l'importance :

- ✚ Aider au diagnostic,
- ✚ Mesurer la progression et l'extension de maladie,
- ✚ Mesurer l'effet du traitement,
- ✚ Suivre la stabilité d'une fonction,
- ✚ Estimer les facteurs de risque,
- ✚ Et dépistage chez les sujets sains.

Ce rapport présente le travail que j'ai effectué lors de mon stage au sein du Centre Hospitalier EL GHASSANI qui a débuté du 07 jusqu'au 30 Avril 2014 au sein du service «Hématologie», puis du 01 jusqu'au 31 mai au sein du service «Sérologie».

L'objectif du stage est de comprendre les méthodes utilisées actuellement dans les laboratoires (hématologie, sérologie...) et l'intérêt clinique des paramètres dosés, ainsi que de maîtriser les équipements nécessaires (organisation des laboratoires, études de coût...).

Le but du stage est la réalisation des analyses hématologiques, sérologiques, sur des femmes, hommes, nouveau nés, enfants, adultes, et personnes âgées, pour voir l'évolution des valeurs des analyses en fonction de ces paramètres : âge et sexe.

III. Matériel et Méthodes

1. Tests effectués au sein du service d'hématologie

Après le prélèvement, le sang est mis dans des tubes avec une couleur spécifique en fonction des tests ou analyses demandés.

Tableau 1 : les analyses effectuées, la couleur du tube et l'anticoagulant utilisé.

Test	Couleur du tube	Anticoagulant utilisé
NFS	Violet	EDTA (poudre)
TP et TCK	Bleu	Citrate de sodium 3,8 % (liquide)
VS	Noir	Citrate de sodium 3,8% (liquide)

1.1 Numération Formule Sanguine (NFS)

Après avoir reçu des tubes violets, on met ces tubes dans l'automate à l'aide des racks qui ont la capacité de porter 10 tubes. On note les informations sur les patients et on attend les résultats sous formes d'Hémogrammes.

Remarque : Le volume minimum requis du sang total dans le tube à échantillon est de 1ml, et la hauteur du tube à échantillon ne doit pas dépasser 82mm.

Dans le laboratoire la numération formule sanguine est réalisée grâce à l'automate à cytométrie de flux.

✚ Principe de la cytométrie de flux (CMF) :

Il s'agit de mesurer (métrie) et d'analyser les signaux optiques ou physiques émis par une cellule (cyto) transportée par un liquide vecteur (flux) jusqu'à une source d'excitation lumineuse qu'elle coupe ce qui permet son comptage. Les informations sur la cellule apportées par la CMF sont : sa taille relative, sa granularité et/ou son intensité relative de fluorescence.

La cytométrie de flux par fluorescence utilisée par certains automates d'Hématologie permet de mesurer la fluorescence émise par la cellule. Cette fluorescence peut être spontanée, mais le plus souvent, elle est apportée à la cellule par un fluorochrome (acidine orange, bromure d'éthidium...) qui a une affinité propre pour un constituant donné. Le fluorochrome absorbe l'énergie du laser et réémet l'énergie absorbée sous forme de photons d'une longueur d'onde plus élevée. Des colorants fluorescents se lient à l'ADN/ARN intracellulaire. L'intensité du signal fluorescent émis est proportionnelle à la concentration d'ADN/ARN de chaque cellule.

Le principe de la cytométrie de flux est expliqué par la figure N° 2 suivante :

Représentation schématique d'un cytomètre de flux

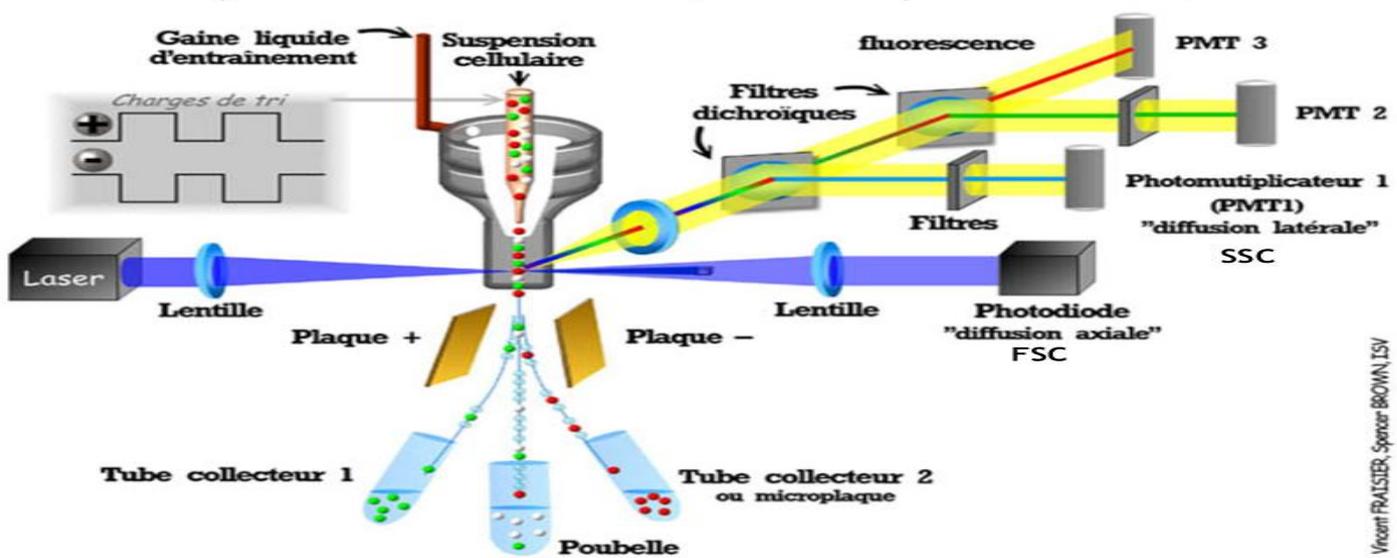


Figure 2 : le principe de la cytométrie de flux

1.1.1 Numération des globules rouges

a. Définition

Le Globule Rouge ou hématie est une cellule sans noyau, biconcave, présente dans le sang circulant auquel elle confère sa couleur rouge. Son diamètre est de 7 à 8 μm .

Le globule rouge ou érythrocyte est le terme de la lignée rouge qui comprend le proérythroblaste, l'érythroblaste basophile, l'érythroblaste polychromatophile, l'érythroblaste acidophile, le réticulocyte, et l'érythrocyte. Cette évolution cellulaire se déroule dans la moelle osseuse.

Le globule rouge contient de l'hémoglobine qui assure le transport de l' O_2 et joue également un rôle dans le transport du CO_2 grâce à l'anhydrase carbonique. La durée de vie de l'hématie est de 120 jours environ.

b. Echantillon

Classiquement, la numération des GR est réalisée chez un sujet à jeun. Cette précaution n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement peut être effectué sur du sang capillaire ou veineux recueilli sur EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique). Dès que la prise du sang est terminée, il faut homogénéiser le prélèvement par des mouvements de retournement doux pour éviter l'apparition de caillot. Une agitation forte provoque l'hémolyse.

c. Matériel

- XT-2000i/XT-1800i : est un analyseur automatique d'hématologie. Il s'utilise pour les diagnostics in vitro en laboratoires cliniques.
- Racks : sont des porteurs des tubes à échantillons, pour réaliser la NFS dans l'automate.
- portoirs pour les tubes à échantillons.

d. Mode opératoire

- ✓ Numérotter les tubes à échantillons,
- ✓ entrer les informations sur chaque patient dans l'ordinateur,
- ✓ Placer les tubes dans les racks,
- ✓ Imprimer les résultats sous forme d'hémogrammes.

e. Valeurs normales

Tableau 2 : les valeurs normales en Globules Rouges.

Nouveau-né : 410 000 à 6100 000 GR/ mm ³	Femme : 400 000 à 5000 000 GR/ mm ³
Enfant : 3800 000 à 5200 000 GR/ mm ³	Homme : 4500 000 à 5500 000 GR/ mm ³

f. Variation physiopathologiques

Plusieurs facteurs ont un effet significatif sur le nombre des GR tels que l'âge, le sexe....

Tableau 3 : les valeurs physiopathologiques des Globules Rouges.

Augmentation du nombre des GR	Diminution du nombre des GR
=> les polyglobulies, => l'exercice physique intense.	=> les anémies, => anomalies de coloration, de forme, et de taille.

1.1.2 Hémoglobine

a. Définition

L'Hémoglobine est une hétéroprotéine allostérique synthétisée par les érythroblastes. Elle est constituée d'une partie protéique la globine et d'un groupement prosthétique l'Hème. La Globine est formée de 4 chaînes identiques deux à deux. L'Hb par une liaison réversible transporte l'O₂ des alvéoles pulmonaires vers les tissus. Cette fixation est favorisée par le départ du CO₂.

- b. Echantillon même échantillon que celui des GR.
- c. Matériel même matériel que celui utilisé pour les GR.
- d. Mode opératoire même mode opératoire que celui utilisé pour les GR.
- e. Valeurs normales

Tableau 4: les valeurs normales du taux d'Hémoglobine.

Nouveau-né : 5 à 19 g/100ml	Femme : 11.75 à 15 g/100ml
Enfant (1 à 12 ans) : 12 à 14 g/100ml	Homme : 13 à 16 g/100ml

f. Variation physiopathologiques

L'anémie est définie par une diminution du taux d'Hb total érythrocytaire, les constantes érythrocytaires (Le Volume Globulaire Moyen, La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine, La Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine) permettent de classer les anémies. Le taux d'Hb est augmenté au cours des polyglobulies.

1.1.3 Hématocrite

a. Définition

L'Hématocrite correspond au volume occupé par les hématies entassées par centrifugation dans un volume de sang total connue, il s'exprime en pourcentage.

- b. Echantillon même échantillon que celui des GR.
- c. Matériel même matériel que celui utilisé pour les GR.
- d. Mode opératoire même mode opératoire que celui utilisé pour les GR.
- e. Valeurs normales

Tableau 5 : les valeurs normales d'Hématocrite.

Nouveau-né : 44 à 64 %	Femme : 37 à 47 %
Enfant (1 à 12 ans) : 36 à 44 %	Homme : 40 à 54 %

f. Variations physiopathologiques

Tableau 6 : Variations physiopathologiques d'Hématocrite.

Augmentation d'Hématocrite	Diminution d'Hématocrite
=> les polyglobulies, => les états de déshydratations.	=> les hémodilutions, => les anémies surtout microcytaires.

1.1.4 Les constantes érythrocytaires

Le contenu du GR dépend de la quantité d'hémoglobine synthétisée au cours de l'érythropoïèse et du volume de l'hématie.

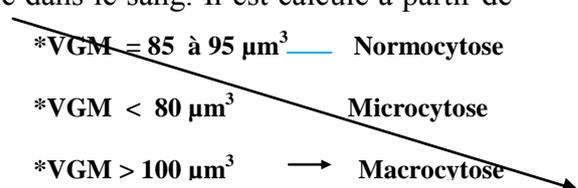
a. Le Volume Globulaire Moyen (VGM) :

Il correspond au volume moyen qu'occupe une hématie dans le sang. Il est calculé à partir de la formule :

*VGM = 85 à 95 μm^3 — Normocytose

*VGM < 80 μm^3 — Microcytose

*VGM > 100 μm^3 —> Macrocytose



$$VGM(\mu\text{m}^3) = \frac{\text{Hématocrite \%}}{\text{Nombre d'hématies} \left(\frac{\text{millions}}{\text{mm}^3} \right)}$$

b. La Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) :

C'est le poids moyen de l'hémoglobine contenue dans les hématies de l'échantillon analysé. Elle est calculée de la façon suivante :

$$TCMH(\text{pg}) = \frac{\text{Hémoglobine} \left(\frac{\text{g}}{100\text{ml}} \right)}{\text{Nombre d'hématie} \left(\frac{\text{millions}}{\text{mm}^3} \right)}$$

TCMH = 27 à 32 pg — Normale

Ce paramètre est considéré comme l'un des meilleurs indices d'un déficit de synthèse de l'Hémoglobine. Ces variations apparaissent bien plus tôt que celle de la CCMH.

c. La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) :

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

$$CCMH(\%) = \frac{\text{Hémoglobine} \left(\frac{\text{g}}{100\text{ml}} \right)}{\text{Hématocrite \%}}$$

CCMH = 32 à 36 % → Normale

CCMH < 30 % → Hypochromie

1.1.5 Les plaquettes

a. Définition

La plaquette ou thrombocyte est un élément figuré du sang sans noyau, à contenu granuleux dont la taille varie entre 2 à 4 μm.

Les plaquettes sont libérées à partir du mégacaryocyte au niveau de la moelle osseuse, et jouent un rôle essentiel dans l'hémostase primaire. Elles contiennent le facteur III plaquettaire nécessaire à la formation de la thromboplastine et interviennent dans la coagulation. Les plaquettes jouent un rôle dans la rétraction du caillot sanguin et possèdent une action protectrice vis-à-vis de l'endothélium vasculaire. La durée de vie des plaquettes est estimée à 10 jours environ.

b. Echantillon même échantillon que celui des GR.

c. Matériel même matériel que celui utilisé pour les GR.

d. Mode opératoire même mode opératoire que celui utilisé pour les GR.

e. Valeurs normales

Leur nombre varie de 150 000 à 450 000 plaquettes /mm³

f. Variation physiopathologiques

Tableau 7 : les variations physiopathologiques du taux des plaquettes

<u>Augmentation</u>	<u>Diminution</u>
---------------------	-------------------

<u>Thrombocytes</u> *Maladies infectieuses et inflammatoires *Après hémorragie massive * Néoplasies	<u>Thrombopénie</u> *Aplasia médullaire *Arrêt de maturation des plaquettes *Anomalie de destruction
--	---

1.1.6 Numération des Globules Blancs

a. Définition

Le Globule Blanc ou leucocyte est une cellule nucléée du sang. Selon la forme du noyau on distingue 2 grandes catégories de leucocytes :

- Les polynucléaires (P.N) : P.N Neutrophiles, P.N Eosinophiles, P.N Basophiles.
- Les mononuclés (M.N) : Monocytes et Lymphocytes.

Les leucocytes sont à la base de l'immunité à médiation cellulaire et humorale, Ils assurent la défense de l'organisme contre les poussées infectieuses, inflammatoires et allergiques. Les GB proviennent de la moelle osseuse à partir de lignées bien différenciées.

b. Echantillon même échantillon que celui des GR.

c. Matériel même matériel que celui utilisé pour les GR.

d. Mode opératoire même mode opératoire que celui utilisé pour les GR.

e. Valeurs normales

- Nouveau-né : 12 000 à 25 000 GB/mm³
- Enfant : 6 000 à 15 000 GB/mm³
- Adulte : 4000 à 10 000 GB/mm³

N : 45 à 75 % ----->> soit : 1800 à 7000 / mm³

Eo : 1 à 3 % ----->> soit : 50 à 500 / mm³

Ba : 0 à 1 % ----->> soit : 0 à 50 / mm³

Ly : 20 à 40 % ----->> soit : 100 à 4000 / mm³

Mo : 3 à 9 % ----->> soit : 100 à 700 / mm³

f. Variations physiopathologiques

Tableau 8 : les variations physiopathologiques des Globules Blancs.

Augmentation	Diminution
--------------	------------

<p><u>Hyperneutrophilie</u> *Physiologique (effort physique, stress...) *Infections Bactériennes *Maladies Inflammatoires....</p> <p><u>Hyperéosinophilie</u> *Causes parasitaires et allergiques, *Connectivités....</p> <p><u>Hyperbasophilie</u> *Allergies....</p> <p><u>Hypermonocytose</u> *Infections Bactériennes, parasitaires et virales *Néoplasies</p> <p><u>Hyperlymphocytose</u> *Infection virales et Bactériennes....</p>	<p><u>Leucopénie</u> *Infections Bactériennes (Thyroïde...) *Infections Virales (grippe...) *Infections Parasitaires (leishmaniose.....) *Infections Hématologiques (anémie mégaloblastique....)</p>
--	--

1.2 Le taux de prothrombine et le temps de céphaline activée

Ces deux tests sont réalisés pour tester l'état fonctionnel de certaines molécules plasmatiques : les facteurs de coagulation.

L'activation de la coagulation in vitro a besoin de facteurs qui travaillent en cascade. La figure suivante explique les différentes étapes de l'activation de la coagulation.

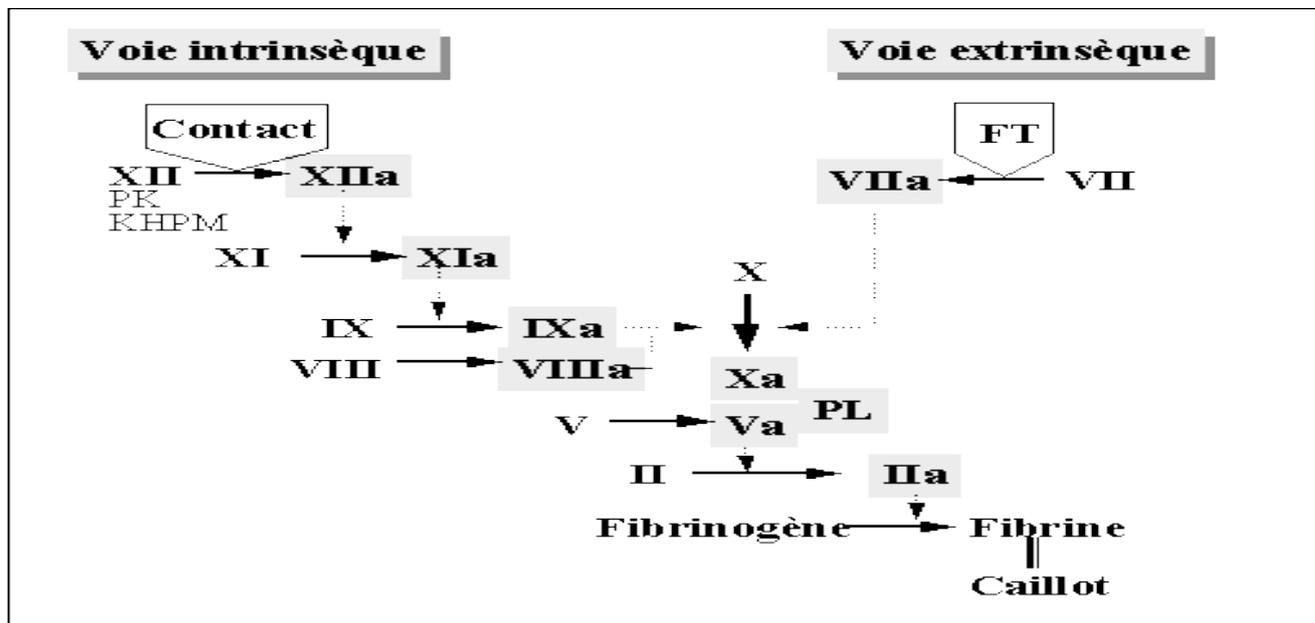


Figure 3 : schéma d'activation de la coagulation in vitro.

1.2.1 Le taux de prothrombine (TP) ou le temps de Quick (TQ)

a. Définition

Le temps de Quick ou Taux de prothrombine mesure le temps de recalcification d'un plasma citraté en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire (facteur III tissulaire). Il renseigne sur l'activité des facteurs II, V, VII, et X de la coagulation. C'est une méthode globale d'exploration de la coagulation extrinsèque ou voie exogène.

b. Echantillon

Classiquement, le Temps de Quick est réalisé chez un sujet à jeun ; cette précaution n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse.

Il se fait sur citrate de sodium à 3,8%, en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang. On le centrifuge à 4000 tours/min pendant 15min pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le test devra être effectué dans un délai n'excédant pas 4h au plus après le prélèvement.

c. Matériel

- Centrifugeuse.
- frigidaire : pour la conservation des réactifs.
- Micropipettes réglables (50 à 200 µl), et les cônes pour micropipettes.
- CA50 : un appareil utilisé pour déterminer les valeurs de TP et TCK.
- Les cupules à Réaction : des petits tubes où se déroule la réaction.

d. Mode opératoire

D'abord l'automate passe en mode chauffage après l'allumage, Pour atteindre la température 37°C. Cela peut prendre 30min. Quand la température atteint 37°C l'automate est prêt pour effectuer les analyses. Après on suit les étapes :

- ✓ Placer le réactif du TP dans le puits de réactif au moins pendant 10min,
 - ✓ Pipeter 50 µl de l'échantillon dans la cupule à réaction,
 - ✓ Mettre la cupule de réaction dans le puits de lecture destiné à mesurer le TP,
 - ✓ Appuyer sur Start du canal choisi, ceci déclenche l'incubation pendant 2 min,
 - ✓ A 0s un long bip est émis. A ce moment il faut ajouter 100µl du réactif du TP.
- Remarque** : Si le temps d'ajout du réactif est dépassé l'analyse sera annulée.
- ✓ Une fois le réactif additionné la réaction commence et le résultat sera affiché à la fin de l'analyse.

e. Valeurs normales

TQ s'exprime par comparaison à un témoin. Il varie entre 11 et 13s. Habituellement, on exprime le TQ en pourcentage par rapport à un plasma normal. On l'appelle alors Taux de Prothrombine ou TP. Il varie entre 70 et 100%.

f. Variation physiopathologiques

Tableau 9 : Les variations physiopathologiques du taux de prothrombine.

Augmentation (valeurs supérieures à 100%)	Diminution (valeurs inférieures à 70%)
Les taux supérieurs à 100% n'ont pas de signification pathologique, et sont considérés comme normaux.	les taux inférieurs à 70%, peuvent orienter vers : <ul style="list-style-type: none"> • Un déficit en facteurs II, V, VII, et/ou X, • Une atteinte hépatique, un traitement anticoagulant par les antivit k, • Maladie hémorragique du nouveau né, • Une hypofibrinogénémie, • et la présence d'anticoagulants circulants (anti II, V, VII, X).

Au cours des traitements anticoagulants oraux (antivitamine k), la zone thérapeutique du TP varie en fonction des réactifs utilisés de 35 à 15%. Pour remédier à ce manque de standardisation, 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. La zone thérapeutique de l'INR est comprise entre 2 à 4,5.

$$R = \frac{\text{Temps du malade}}{\text{Temps du témoin}} ; \text{INR} = R^{\text{ISI}}$$

ISI : Index de Sensibilité International déterminé vis-à-vis de la thromboplastine de référence. Il est donné par le fabricant.

1.2.2 Le temps de céphaline activée (TCA) ou le temps de céphaline kaolin (TCK)

a. Définition

Le Temps de Céphaline Activée ou le Temps de Céphaline Kaolin, mesure le temps de recalcification d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de céphaline. C'est une méthode globale d'exploration de la coagulation intrinsèque ou voie endogène.

b. Echantillon même échantillon que celui de TP.

c. Matériel même matériel utilisé pour la détermination du TP.

d. Mode opératoire

Après l'allumage de l'automate, on suit les étapes :

- ✓ Placer le réactif TCK et CaCl₂ dans l'incubateur réactif et laisser 10min environ,
 - ✓ Pipeter 50 µl de l'échantillon et mettre pour incubation dans le canal choisi,
 - ✓ Appuyer sur Start, après 10s pipeter 50µl du réactif TCK,
 - ✓ A 0s ajouter le réactif et fermer le couvercle,
- Remarque** : Si le temps d'ajout du réactif est dépassé l'analyse sera annulée.
- ✓ Quand le compteur atteint 10s pipeter 50 µl de CaCl₂, à 0s ajouter le réactif,
 - ✓ La détection commence et le résultat sera affiché en fin de la réaction.

e. Valeurs normales

Le temps normal s'exprime par comparaison à un témoin ; pour le CA50 utilisé dans le laboratoire le témoin est 34s. Les valeurs normales sont situées entre 34 et 40s, Un temps inférieur à 34s n'a habituellement pas de signification pathologique.

La zone thérapeutique du TCK chez un malade sous Hépatine se situe généralement entre 1,5 à 2 fois le temps du témoin : 51 à 68s.

f. Variations physiopathologiques

- Présence ou absence d'un syndrome hémorragique.
- Insuffisance hépatique sévère.
- Afibrinogénémie congénitale.

1.3 Vitesse de Sédimentation

a. Définition

Le Vitesse de Sédimentation peut être définie comme étant la vitesse avec laquelle sédimente les hématies en suspension dans un plasma citraté à l'intérieur d'un tube de westergreen maintenu verticalement.

La vitesse de sédimentation est longtemps restée le principal marqueur humoral, le moins coûteux de la réaction inflammatoire, qui est exploré actuellement pas le profil protéinique de l'inflammation. Les protéines de l'inflammation qui contribuent à l'accélération de la vitesse de sédimentation sont le fibrinogène, l'haptoglobine et l'orosomucoïde.

b. Echantillon le même échantillon que celui de TP.

c. Matériel

- Tube de westergreen.
- support spécial à sédimentation pour VS.
- l'autoclave.

d. Mode opératoire

Après une homogénéisation du prélèvement, il faut aspirer le sang 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, à la T° ambiante à l'abri de la lumière intense et directe. Après 1h on lit la hauteur du plasma surnageant depuis la base du ménisque supérieure jusqu'au sommet de la colonne d'hématies. Le résultat est exprimé en mm.

e. Valeurs normales

[Tableau 10 : les valeurs normales de la vitesse de sédimentation.](#)

Sexe \ âge	1 à 12 ans	13 à 50 ans	après 50 ans
Homme	0 à 10 mm	7 à 15 mm	15 à 20 mm
Femme	0 à 10 mm	7 à 20 mm	20 à 30 mm

f. Variation physiopathologiques

Tableau 11 : les variations physiopathologiques de la vitesse de sédimentation.

Augmentation	Diminution
*l'âge, la grossesse, Maladies rhumatismales, Tuberculose, *Infections, Néoplasies,	*Polyglobulie *Hémoconcentration,....

Remarque: pour confirmer la présence d'une inflammation, plusieurs auteurs conseillent de tenir compte uniquement de l'élévation de 2 à 3 paramètres suivants : VS, CRP >15 ng/l et Haptoglobine > 2,5 g/l.

2. Tests effectués au sein du service sérologie

Après le prélèvement, le sang est mis dans des tubes rouges qui ne contiennent pas d'anticoagulants suivi d'une centrifugation 4000 tour/min pendant 5min. Après la récupération du sérum, on peut effectuer les tests suivants :

2.1 Toxoplasmose (TOXOIgGII)

a. Définition

TOXOIgG II est un test quantitatif automatisé sur les instruments, permettant la mesure quantitative des IgG anti-TOXOplasmiques dans le sérum ou le plasma humain (EDTA) par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

La Toxoplasmose est une infection parasitaire dont l'agent est le protozoaire *Toxoplasma Gondii*. Ce dernier est un pathogène très répandu chez l'homme, intracellulaire obligatoire, dont l'hôte définitif est le chat, et infecte de nombreux autres mammifères.

b. Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement, Dans une 1ère étape l'échantillon est dilué, puis aspiré et refoulé à l'intérieur du cône. Les Anticorps (Ac anti *T.gondii* IgG) présents dans l'échantillon vont se fixer aux Antigènes (Ag *T.gondii*) fixés à l'intérieur du cône, des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Au cours de la seconde étape des IgG monoclonales (souris) anti IgG humaines conjuguée à la phosphatase alcaline sont aspirées et refoulées à l'intérieur du cône et vont se lier aux IgG humaines fixées sur l'Ag.

Lors de l'étape finale de révélation le substrat (4-Méthyl-Ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-Ombelliférol) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'Ac présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

c. Echantillon

Classiquement, ce test est réalisé chez un sujet à jeun depuis 8h environ. Cette précaution n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement peut être fait sur le sérum ou sur le plasma. Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés, contaminés, ou ayant subi plus d'une décongélation. Il faut séparer le plus rapidement possible le sérum du culot globulaire (max 4h).

d. Matériel

- Micropipettes réglables (100 µl), et les cônes pour les micropipettes.
- Gants non talqués à usage unique.
- L'instrument : C'est un appareil qui réalise les tests : TOXOIgGII, RUBIgGII, FT3, FT4, TSH, TPSA, HBs AgUltra, Anti HVC.
- Cartouche : composée de 10 puits, recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquette comporte un code du test. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

e. Mode opératoire

- ✓ Sortir les réactifs, laisser 30min à la température ambiante avant utilisation.
- ✓ Utiliser une cartouche et un cône pour chaque échantillon.
- ✓ Homogénéiser le calibrateur/contrôleur.
- ✓ Mettre 100µl du calibrateur/contrôleur dans le 1er puits, et démarrer l'analyse.

Remarque: ces 2 dernières étapes sont réalisées pour tester la qualité des nouveaux réactifs.

- ✓ Après calibration/contrôle, mettre 100µl du sérum dans la cartouche.
- ✓ Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches.
- ✓ Démarrer l'analyse, toutes les étapes sont alors gérées automatiquement.
- ✓ A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches.

f. Valeurs normales et pathologiques

Les résultats sont obtenus en 40min.

Tableau 12 : Valeurs normales et pathologiques de TOXOIgG II

Titre (IU/ml)	Interprétation
< 4	Test Négatif
4 < Titre < 8	Test Equivoque
8 >	Test Positif

Remarque : les échantillons présentant des concentrations en IgG supérieures à 300 IU/ml doivent être redosés après dilution au $\frac{1}{4}$ dans du sérum physiologique

2.2 Rubéole (RUBIgGII)

a. Définition

RUBIgG II est un test quantitatif automatisé sur l'instrument, permettant la mesure quantitative des IgG dirigées contre le virus de la rubéole : le Rubivirus, dans le sérum ou le plasma humain, par la technique ELFA.

La rubéole est une maladie virale, d'incubation voisine de 13 à 20 jours. C'est une maladie généralement bénigne qui touche les enfants, mais qui peut provoquer de graves malformations congénitales lorsque les femmes sont infectées au début de la grossesse.

b. Principe

Même principe que celui de la TOXOIgGII, sauf que l'Ag utilisé est Ag rubéolique et l'Ac recherché est Ac anti-IgG rubéolique.

- c. Echantillon même échantillon que celui de la TOXOIgGII.
- d. Matériel même matériel que celui utilisé pour la TOXOIgGII.
- e. Mode opératoire même mode opératoire que celui appliqué au TOXOIgGII.
- f. Valeurs normales et pathologiques

Les résultats sont obtenus en 60min.

Tableau 13: Valeurs normales et pathologiques de RUBIgG II.

Titre (IU/ml)	Interprétation
< 10	Test Négatif
10 < Titre < 15	Test Equivoque
15 >	Test Positif

Remarque : les échantillons présentant des concentrations en IgG supérieures à 400 IU/ml doivent être redosés après dilution au 1/3 dans du sérum physiologique.

2.3 Hépatite B (HBs Ag)

a. Définition

HBs Ag Ultra est un test qualitatif automatisé sur l'instrument, permettant la détection des Ag de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) dans le sérum ou le plasma humain, par la technique ELFA. L'infection par le virus de l'hépatite B, se diagnostique par la détection de l'Ag HBs dans le sérum. Il est le premier marqueur à apparaître (2 à 3 semaines). Ce virus est responsable d'hépatite aiguës et chroniques.

b. Principe

Ce dosage peut être effectué selon 2 protocoles: protocole long (90min) ou protocole court (60min).Après une étape préliminaire de lavage, les Ag de l'échantillon se lient simultanément aux Ac monoclonaux fixés sur le cône et à l'Ac conjugué à la biotine. Les composants non liés de l'échantillon sont éliminés par lavage. L'Ag capturé par la phase solide et complexé à l'Ac biotinylé est mis en contact avec la streptavidine conjuguée à la phosphatase alcaline qui se lie à la biotine. Une nouvelle étape de lavage élimine les composants non fixés.

L'étape finale de révélation est la même que celle appliquée au TOXOIgGII.

- c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.
- d. Matériel Même matériel que celui utilisé pour la TOXOIgGII.
- e. Mode opératoire

Même mode opératoire que celui appliqué au TOXOIgGII, sauf le volume aspiré du sérum qui diffère.

Tableau 14 : Le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test HBs Ag Ultra

Test	Temps de la réaction	Volume
HBs Ag Ultra	60 min	200ul

f. Valeurs normales et pathologiques

Tableau 15 : valeurs normales et pathologiques du taux en HBs Ag Ultra

Valeurs du titre en HBsIgGII (ng/ml)		Interprétation
Protocole court	Protocole long	
< 0,13	<0,10	Test Négatif

>0,13	>0,10	Test Positif
-------	-------	--------------

Remarque : Tout résultat positif doit être d'abords répété puis confirmé par d'autres tests.

2.4 Hépatite C (Anti HCV)

a. Définition

Anti-HVC est un test qualitatif automatisé sur l'instrument, permettant la détection des Ac IgG dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti VHC) dans le sérum ou le plasma humain, par la technique ELFA. La détection de ces Ac spécifiques est une aide au diagnostic chez les individus avec des symptômes d'hépatite ou ayant un risque d'infection par l'hépatite C. Le VHC a été très vite associé aux cas d'hépatites non-A, non-B.

La transmission du VHC est principalement parentérale. L'évolution d'une infection par le VHC est fréquemment le passage à une hépatite C chronique (>80%).

b. Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Dans une 1ère étape l'échantillon est dilué, puis aspiré et refoulé à l'intérieur du cône. Les Anticorps (Ac anti HVC) présents dans l'échantillon vont se fixer aux Antigènes représentant les protéines de core, NS3 et NS4 fixées à l'intérieur du cône. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Au cours de la seconde étape des IgG monoclonales (souris) anti IgG humaines conjuguées à la phosphatase alcaline recombinante sont aspirées et refoulées à l'intérieur du cône et vont se lier aux IgG humaines fixées sur les molécules de la phase solide. A nouveau des étapes de lavages éliminent les composés non fixés.

L'étape finale de révélation est la même que celle appliquée au TOXOIgGII.

- c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.
- g. Matériel Même matériel que celui utilisé pour la TOXOIgGII.
- d. Mode opératoire

Même mode opératoire que celui appliqué au TOXOIgGII, sauf le volume aspiré du sérum qui diffère.

Tableau 16 : le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test Anti-HCV.

Test	Temps da la réaction	Volume
Anti-HVC	30 min	100µl

e. normales et pathologiques

Tableau 17 : valeurs normales et pathologiques du taux d'Anti-HCV.

Valeurs du test (ng/ml)	Interprétation
< 1,00	Test Négatif
>1,00	Test Positif

Remarque: Tout résultat positif doit être d'abord répété puis confirmé par d'autres tests.

2.5 Veneral disease research laboratory (VDRL)

a. Définition

La syphilis est une maladie sexuellement transmissible. Elle est due à une bactérie appelée *trèponèma pallidium* appartenant à la famille des spirochètes. Le VDRL contribue au diagnostic de la syphilis comme test de dépistage et à sa surveillance sérologique.

b. Principe

Le test est une réaction sérologique qui recherche les Ac dirigés contre un Ag cardiolipidique présent sur la membrane cytoplasmique du corps trèponémique et sur d'autres tissus (myocarde).

Ce qui rend cette analyse non spécifique. La technique consiste en une micro agglutination sur une plaque en verre qui sera absorbée au microscope optique. L'Ag est constituée d'une suspension de phosphatidyl-glycérol isolées du cœur de bœuf. Des particules de charbon de bois piégées dans le réseau formé par la combinaison des Ag avec les Ac correspondant, favorisent la lecture au microscope. Ces particules de charbon sont complées par des billes de latex qui servent de support au cardiolipidique.

f. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.

c. Matériel

- Centrifugeuse, microscope optique, tampon (NaCl 0,9%).
- Micropipettes réglables, les cônes, plaquette en verre type Klin.
- Congélateur : pour la conservation des réactifs et les échantillons positifs.

d. Mode opératoire

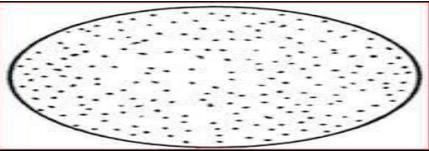
- ✓ Mettre les réactifs à la T° ambiante (10 à 20 min au minimum),
- ✓ Déposer 50µl de chaque sérum à tester dans un puits de la plaque de Klin de manière à couvrir toute la surface de la case,
- ✓ Homogénéiser et déposer 20µl du charbon actif dans chaque puits contenant le sérum,
- ✓ Mettre la plaque sur l'agitateur pendant 8min,
- ✓ Lire le résultat au microscope optique (objectif 10).

e. Valeurs normales et pathologiques

Il est recommandé de pratiquer le test qualitatif avec le sérum pur et dilué au 1/2. En effet un excès d'Ac peut donner une réaction faussement négative : c'est le phénomène de prozone qui disparaît après dilution de l'échantillon. Tous les résultats positifs doivent être confirmés par une méthode plus spécifique le Treponema Pallidum Hemagglutination Assay (TPHA).

➤ Réaction qualitative

Tableau 18 : résultats de la réaction qualitative de Veneral disease research laboratory.

Titre	Résultat observé	Interprétation
Répartition uniforme des particules non agglutinées en nuage		Test Négatif
Présence d'un amas d'agglutination		Test Positif

➤ Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, on réalise la même réaction avec une série de dilution du sérum à raison de 2 (1/2, 1/4, 1/8, ...).

Remarque : Par habitude le titre de VDRL est exprimé par la valeur de la dernière dilution donnant une réaction positive nette.

2.6 Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA)

a. Définition

Le TPHA vient compléter le dépistage de la syphilis par le VDRL.

b. Principe

Le test TPHA est une réaction sérologique d'hémagglutination passive réalisée sur microplaque. L'Ag est constitué d'un lysat de tréponèmes pallidum absorbés sur des hématies.

Le TPHA contient des érythrocytes aviaires (hématies de poules) formolés revêtus d'Ag (érythrocytes sensibilisés) et des érythrocytes aviaires formolés non revêtus (érythrocytes non sensibilisés). Lorsque les échantillons positifs dilués sont mélangés à des érythrocytes sensibilisés, il y a une agglutination et les cellules forment un voile caractéristique couvrant les puits de la plaque de microtitration. En absence d'Ac, les érythrocytes non sensibilisés sédimentent au fond du puits de la plaque de microtitration sous forme d'un bouton compact.

g. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.

c. Matériel

Même matériel que celui de VDRL, en plaçant la plaque en verre avec une microplaque en plastique avec cupules en U.

d. Mode opératoire

- ✓ Mettre les réactifs à la Température ambiante (10 à 20 min au minimum),
- ✓ Déposer 190µl de réactif de TPHA dans le puits pour chaque sérum à tester,
- ✓ Déposer 10µl du sérum dans chaque puits contenant le réactif,
- ✓ Mixer l'ensemble, pipeter 25µl de mélange et poser dans un puits (A), et pipeter 25µl de mélange et poser dans un autre puits (B),
- ✓ Déposer une goutte d'érythrocytes non sensibilisés dans le 1^{er} puits (A), et une goutte d'érythrocytes sensibilisés dans le second puits (B).
- ✓ Mettre la plaque à l'agitateur (1 à 2min),
- ✓ Placer la plaque à la T° ambiante 40min environ,
- ✓ Lire le résultat à l'œil nu.

e. Valeurs normales et pathologiques

Les hématies agglutinées forment un voile uniforme tapissant le fond du puits. Les hématies non agglutinées sédimentent et forment un bouton compact au centre du puits.

➤ Réaction qualitative

Tableau 19 : résultats de la réaction qualitative de *Treponema pallidum* hemagglutination assay.

Hématies non sensibilisées	Hématies sensibilisées	Interprétation
Bouton compact au fond du puits 	Voile uniforme couvrant tout le puits 	Test Négatif

Bouton compact au fond du puits 	Bouton compact au fond du puits 	Test Positif
		

➤ Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, on réalise la même réaction avec une série de dilution du sérum à raison de 2 (1/80, 1/160, 1/320,...), avec le diluant du sérum fourni par le kit.

Remarque : Par habitude le titre de TPHA doit être exprimé par la valeur de la dernière dilution donnant une réaction positive nette.

2.7 Anti-streptolysineO (ASLO)

a. Définition

L'anti-streptolysineO (ASLO) est un ensemble d'Ac spécifique de la streptolysineO, une enzyme extracellulaire produite par les streptocoques β -hémolytiques du groupe A (*Streptococcus pyogenes*). L'ASLO peut être détectée une semaine à un mois après une infection aux streptocoques. *S. pyogenes* cause de nombreuses infections des voies respiratoires supérieures comme les pharyngites aiguës. Le diagnostic clinique ne doit pas être basé sur un test, mais il doit intégrer les données cliniques et du laboratoire.

b. Principe

L'ASLO sérique à 200UI/ml ou des valeurs supérieures provoque une agglutination des particules de latex recouvertes de streptolysineO grâce au réactif qui possède une suspension de particules de latex blanc sensibilisées avec streptolysineO. Les contrôles positif et négatif fournis avec le kit doivent être testés ensemble avec les échantillons des patients, afin de vérifier le fonctionnement correct du kit.

Le contrôle positif provoque l'apparition d'une agglutination visible des particules de latex.

Le contrôle négatif ne provoque pas l'apparition d'une agglutination des particules de latex.

c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.

d. Matériel

- Agitateur, des cartes de test (noir), et des bâtonnets jetables,
- Micropipettes réglables (50ul).

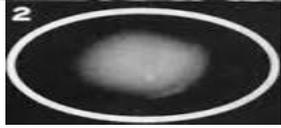
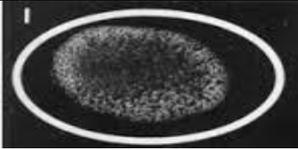
e. Mode opératoire

- ✓ Placer les réactifs à la température ambiante (10 à 20 min au minimum),
- ✓ Déposer 50µl du sérum à tester et une goutte de réactif dans des cercles séparés de la carte test contenant le sérum,
- ✓ Mélanger à l'aide un bâtonnet jetable, en étalant le mélange sur toute la surface,
- ✓ Agiter la carte environ 2min,
- ✓ Lecture dans la minute qui suit l'arrêt de l'agitation.

f. Lecture

On examine macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination dans la minute suivant l'arrêt de l'agitation.

Tableau 20 : résultats obtenus après la réalisation du test Anti-streptolysineO

Contenu en ASLO	Résultat observé	Interprétation
< 200IU/ml		Test Négatif : absence d'agglutination
>200IU/ml		Test Positif : Présence d'agglutination

Remarque : Tout résultat positif doit être d'abord répété avec une série de dilution. Par habitude le titre d'ASLO continu à être exprimé par la valeur de la dernière dilution donnant une réaction positive nette.

2.8 C-reactive protein (CRP)

a. Définition

C-Réactive protein, synthétisée dans le foie, est un des composants de la phase aigüe la plus sensible. Elle active la voie classique du complément en réponse à la réaction inflammatoire. Les niveaux dans le plasma augmentent énormément au cours d'un infarctus du myocarde, du stress, d'infections, d'inflammation, et dans les processus néoplasique. L'augmentation de la PCR jusqu'à 2000 fois supérieure à la normale se traduit dans les premières 24 - 48h, bien que

cette augmentation ne soit pas spécifique. La CRP est un bon marqueur de l'inflammation aiguë.

b. Principe

La CRP sérique à 6mg/l ou plus provoque une agglutination des particules de latex recouvertes de l'anti-CRP grâce au réactif qui possède une suspension de particules de latex blanc sensibilisées avec l'anti-CRP.

Les contrôles positif et négatif fournis avec le kit doivent être testés ensemble avec les échantillons des patients, afin de vérifier le fonctionnement correct du kit. Le contrôle positif provoque l'apparition d'une agglutination visible des particules de latex. Le contrôle négatif ne provoque pas l'apparition d'une agglutination des particules de latex.

c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.

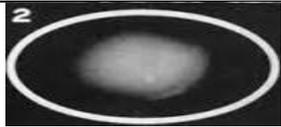
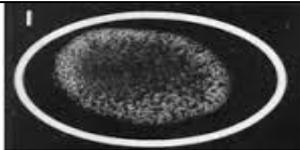
d. Matériel même matériel que celui utilisé pour l'ASLO.

e. Mode opératoire même mode opératoire que celui utilisé pour l'ASLO.

f. Lecture

On examine macroscopiquement, la présence ou l'absence d'agglutination dans la minute qui suit l'arrêt de l'agitation.

Tableau 21: résultats obtenus après la réalisation du test C-Réactive Protein

Contenu en ASLO	Résultat observé	Interprétation
< 6 IU/ml		Test Négatif : absence d'agglutination
>6 IU/ml		Test Positif : Présence d'agglutination

Remarque : Tout résultat positif doit être d'abord confirmé par une série de dilution. Par habitude le titre de CRP doit être exprimé par la valeur de la dernière dilution donnant une réaction positive nette.

2.9 Taux d'antigène spécifique de la prostate (TPSA)

a. Définition

TPSA est un test quantitatif automatisé sur l'instrument, permettant la mesure des Taux d'Antigène Spécifique de la Prostate (TPSA) dans le sérum ou le plasma humain, par la technique ELFA. Le test TPSA est utilisé dans le diagnostic des pathologies de la prostate dont le cancer de la prostate et dans le suivi des patients ayant des tumeurs malignes diagnostiquées. PSA est une glycoprotéine, principalement produit par l'épithélium glandulaire de la prostate et sécrétée dans le liquide séminal (pour le fluidifier), il est aussi présent dans l'urine et le sang.

b. Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA).

L'échantillon est pipeté et refoulé plusieurs fois à l'intérieur du cône. Cette opération permet aux Ac fixés sur le cône de capturer l'Ag spécifique de la prostate présente dans l'échantillon.

Les composés non liés sont éliminés par lavage. L'Ac conjugué à la phosphatase alcaline va se lier à l'Ag spécifique à la prostate. Des étapes de lavages éliminent les composés non fixés.

L'étape finale de révélation est la même que celle appliquée au TOXOIgGII.

c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.

d. Matériel même matériel que celui utilisé pour la TOXOIgGII.

e. Mode opératoire

Même mode opératoire que celui appliqué au TOXOIgGII, sauf le volume aspiré du sérum qui diffère.

Tableau 22 : le temps et le volume nécessaire pour la réaction du test de Taux d'antigène spécifique de la prostate

Test	Temps de la réaction	Volume
TPSA	40 min	200µl

f. Valeurs normales et pathologiques

Tableau 23 : valeurs normales et pathologiques du taux en Taux d'antigène spécifique de la prostate

Age		<40	40-49	50-59	60-69	>69
[PSA] ng/ml	Limite basse	0.21	0.27	0.27	0.22	0.21
	Limite haute	1.72	2.19	3.42	6.16	6.77

Remarque: Les échantillons présentant des [TPSA] >100ng/ml doivent être redosés après dilution

2.10 Dosage des hormones libres FT3, FT4 et TSH

a. Définition

FT3, FT4, TSH sont des tests quantitatifs automatisés sur l'instrument, permettant la détermination immunoenzymatique des valeurs des hormones FT3, FT4, TSH dans le sérum ou le plasma humain par la technique ELFA.

- + FT3 et FT4 sont des hormones produites par la thyroïde. Elles circulent dans le sang sous forme liée à des protéines de transport (>99,7%), et sous forme libre (0,3%). La forme libre est la fraction physiologiquement active et elle peut faire l'objet d'un dosage spécifique.
- + TSH ou la thyroïdostimuline est une glycoprotéine de l'hypophyse dont le rôle est de stimuler la sécrétion des hormones thyroïdiennes en agissant sur les cellules de la glande Thyroïdienne. La production de cette hormone est soumise à une régulation qui fait intervenir différents facteurs : la TRH ainsi que les hormones T3 et T4.

b. Principe

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en une étape à une détection finale en fluorescence.

L'échantillon est prélevé puis transféré dans le puits contenant l'Ac (antiFT3, antiFT4, antiTSH) marqué à la phosphatase alcaline (conjugué). Le mélange échantillon/conjugué est aspiré puis refoulé plusieurs fois par le cône. Cette opération permet à l'Ag de se lier d'une part aux Ig fixées sur le cône et d'autre part au conjugué formant ainsi un sandwich. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

L'étape finale de révélation est la même que celle appliquée au TOXO.

- c. Echantillon même échantillon que celui de TOXOIgGII.
- d. Matériel même matériel que celui utilisé pour la TOXOIgGII.
- e. Mode opératoire

Même mode opératoire que celui de la TOXOIgGII, sauf le volume aspiré du sérum qui diffère.

Tableau 24 : les temps et les volumes nécessaires pour la réaction des tests FT3, FT4 et TSH

Test	Temps de la réaction	Volume
FT3 et FT4	40 min	100ul
TSH	40 min	200ul

f. Valeurs normales et pathologiques

Il existe une grande variabilité des taux de FT3, FT4, et TSH liés à l'âge du patient, sa localisation géographique, et son état de santé général : grossesse, maladies sévères...

Tableau 25 : valeurs normales et pathologiques des titres en FT3, FT4, et TSH.

Tests	Titre	Interprétation	
		Augmentation	Diminution
FT3	4 à 8.3 pmoles/l	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Adénome, ✓ Hyperthyroïdie ✓ Présence d'Ac anti FT3 ou FT4 sans hyperthyroïdie. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hypothyroïdie, ✓ Pathologies hépatiques, ✓ Pathologies rénales sévères, ✓ Chez les personnes âgées.
FT4	9 à 20 pmoles/l		
TSH	0.25 à 05 µUI/ml	Hypothyroïdie.	Hyperthyroïdie.

IV. Résultats et Discussion

Les résultats représentés dans le tableau correspondent au deux mois: 4 et 5 de mon stage de fin d'étude dans le laboratoire.

Tableau 26 : les résultats des tests hématologiques et sérologiques effectués au laboratoire.

TEST	Nombre de tests		Résultats												service
			Sexe				Age								
	Femmes		Hommes		Nv-nés		Enfants		Adultes		Agés				
	N	aN	N	aN	N	aN	N	An	N	aN	N	aN			
NFS	7000	13000	4000	9000	3000	4000	10	30	150	1050	1700	4900	5140	7020	Externe
TP TCK	370	70	174	43	196	27	00	00	69	16	131	22	170	32	Cardiologique Externe Chirurgie
INR	13	36	04	23	09	13	00	00	04	12	05	13	04	11	Externe
VS	3112	10223	2012	8200	1100	2023	01	00	111	48	1328	2978	1672	7197	Externe
TOX	35	57	35	57	00	00	00	00	00	00	35	57	00	00	Externe

RUB	21	63	21	63	00	00	00	00	00	00	21	63	00	00	Externe
HBs	63	05	47	01	13	04	00	00	00	00	44	03	19	02	Externe
HCV	73	02	33	00	40	02	00	00	00	00	61	02	12	00	Externe
VDRL	471	07	378	04	93	03	00	00	00	00	463	06	08	01	Externe
TPHA	471	07	378	04	93	03	00	00	00	00	463	06	08	01	Externe
ASLO	72	225	15	135	57	90	00	00	48	199	24	26	00	00	Externe
CRP	186	423	180	390	06	33	00	00	17	00	101	133	68	290	Externe Cardiologique
TPSA	30	06	00	00	30	06	00	00	00	00	07	01	23	05	Externe
FT3	45	09	39	06	06	03	00	00	07	00	09	02	29	07	Externe
FT4	42	12	39	09	03	03	00	00	07	00	12	03	23	09	
TSH	17	7	11	04	06	03	00	00	03	00	05	02	09	05	

Plusieurs facteurs ont un effet significatif sur les résultats des tests effectués dans le laboratoire tels que : l'âge, le sexe, l'habitude alimentaire, stress, localisation géographique, l'état de santé général (grossesse, maladies etc.)

Pour les résultats obtenues on va faire la discussion en fonction de l'âge et le sexe.

✓ Les tests les plus demandés :

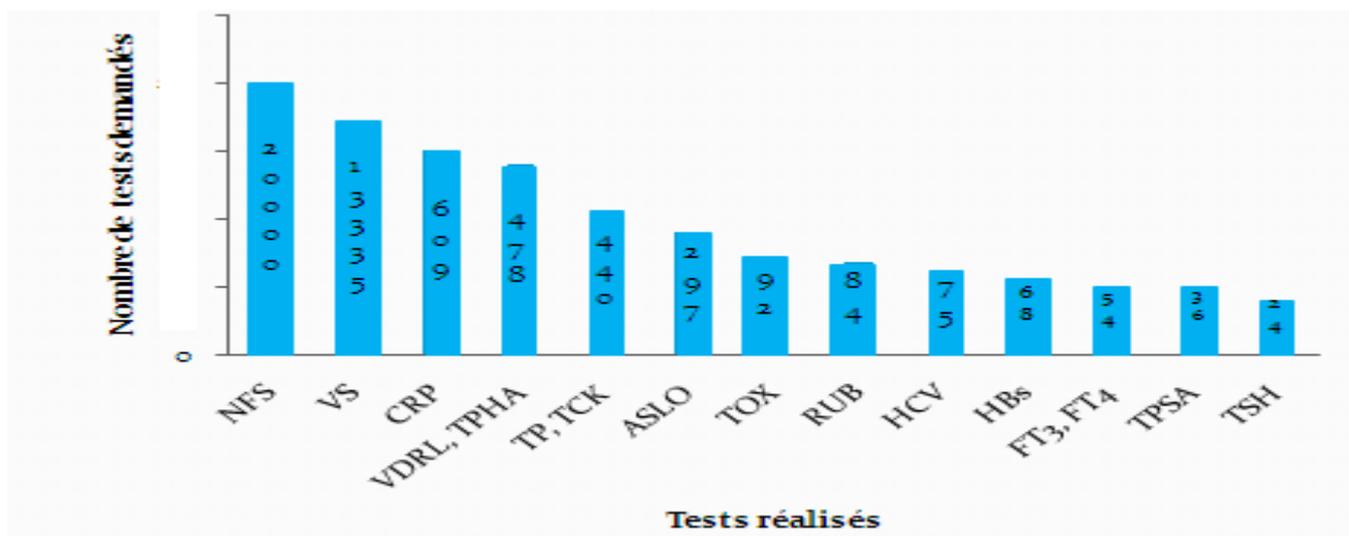


Figure 4 : Nombre de tests demandés en fonction des tests réalisés

Tableau 27: les tests demandés dans le laboratoire

Tests demandés	Dans quel cas demndés
<u>La numération formule sanguine (NFS)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les femmes enceintes • Les personnes âgées • Syndromes hémorragiques • Les patients souffrant de certaines maladies (insuffisance hépatite et rénale) • Les patients sous traitements • Les sujets ayant les symptômes d'anémies • Dépistages chez les sujets sains
<u>La vitesse de sédimentation (VS)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les femmes enceintes • Les personnes âgées • Les patients sous traitements • Les patients souffrant de certaines maladies inflammatoires,....
<u>C-reactive protein (CRP)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les personnes agés • Les patients souffrent de certaines maladies inflammatoires,....
<u>Veneral disease research laboratory (VDRL) et Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les femmes enceintes • Dépistages chez les sujets sains.
<u>Le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCA)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les patients sous traitements • Syndromes hémorragiques • Patients ayant des complications cardiovasculaires • Sujets souffrant d'une mal absorption de vitamine K • Les patients ayant un risque hémorragique • Les patients ayant un problème dans les facteurs de coagulation.
<u>Anti-streptolysineO (ASLO)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les enfants infectés par streptocoques • Les adultes (entre 15 et 25 ans) infectés par streptocoques • Les patients ayant les symptômes d'infection par streptocoques.
<u>Toxoplasmose (TOXO) et Rubéole (RUB)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les femmes enceintes • Les patients ont les symptômes de syphilis • Dépistage chez les sujets sains.
<u>Hépatite B (HBs) et Hépatite C (HCV)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les patients souffrant de l'hépatite B et C sous traitement • Les infections nosocomiales ou contaminations virales • les patients ayant les symptômes de l'hépatite B ou C • Dépistage chez les sujets sains.
<u>Dosage des hormones libres FT3, FT4 et TSH</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les hyperthyroïdies et les hypothyroïdies • Les patients ayant les symptômes de l'hyperthyroïdie ou l'hypothyroïdie
<u>Taus d'antigène spécifique de la prostate (TPSA)</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Les hommes âgés • Plus rarement chez les adultes • Dépistage chez les sujets sains.

- Les tests les plus demandés dans le laboratoire sont : NFS, VS, CRP, VDRL et TPHA et sont des tests demandés chez les femmes enceintes et Les personnes âgées.

✓ Discussion des résultats en fonction du sexe :

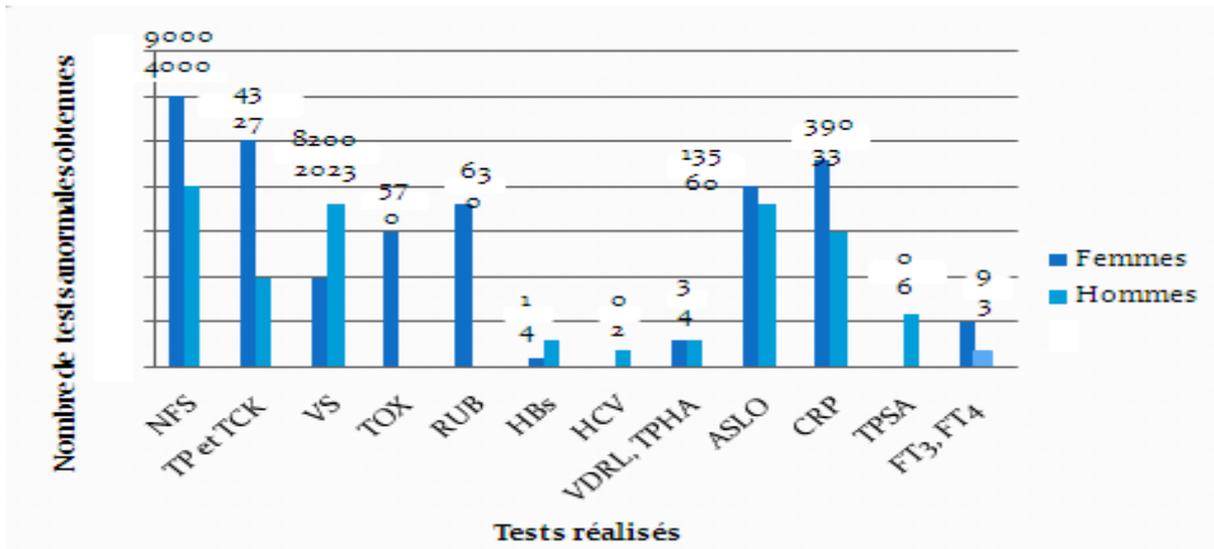


Figure 5 : tests anormaux obtenues en fonction du sexe

Tableau 28 : les résultats des analyses obtenues en fonction du sexe

Tests demandés	Valeurs anormales	
	Femmes	Hommes
La numération formule sanguine (NFS)	↗ (9000 tests aN)	↘ (4000 tests aN)
Le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCA)	↗ (43 tests aN)	↘ (27 tests aN)
La vitesse de sédimentation (VS)	↗ (8200 tests aN)	↘ (2023 tests aN)
Toxoplasmose (TOXO) et Rubéole (RUB)	↗ (53-63 tests aN)	↘ (00 tests aN)
Hépatite B (HBs) et Hépatite C (HCV)	↗ (04-02 tests aN)	↘ (01-00 tests aN)

Veneral disease research laboratory (VDRL) et Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA)	↗ (04 tests aN)	↘ (03 tests aN)
Anti-streptolysineO (ASLO)	↗ (135 tests aN)	↘ (60 tests aN)
C-reactive protein (CRP)	↗ (390 tests aN)	↘ (33 tests aN)
Taus d'antigène spécifique de la prostate (TPSA)	----	↗ (06 tests aN)
Dosage des hormones libres FT3 et FT4	↗ (09 tests aN)	↘ (03 tests aN)

✓ Discussion des résultats en fonction de l'âge :

❖ Numération formule sanguine :

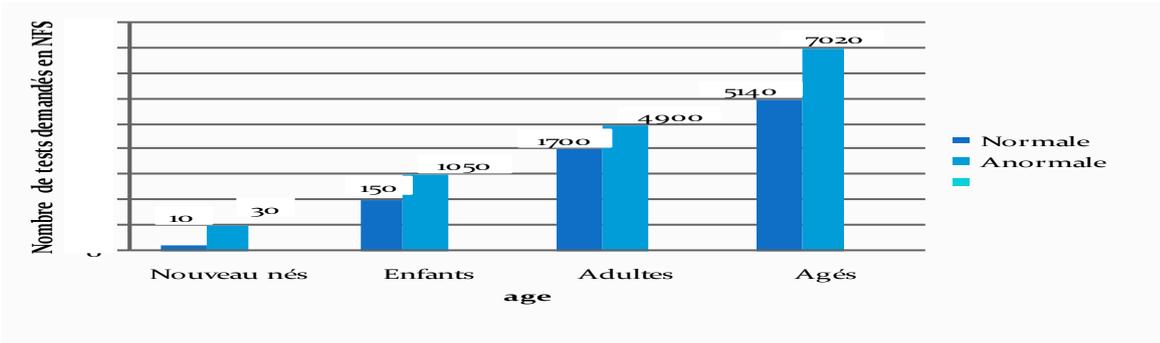


Figure 6 : tests demandés en NFS en fonction de l'âge

❖ Le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCK) :

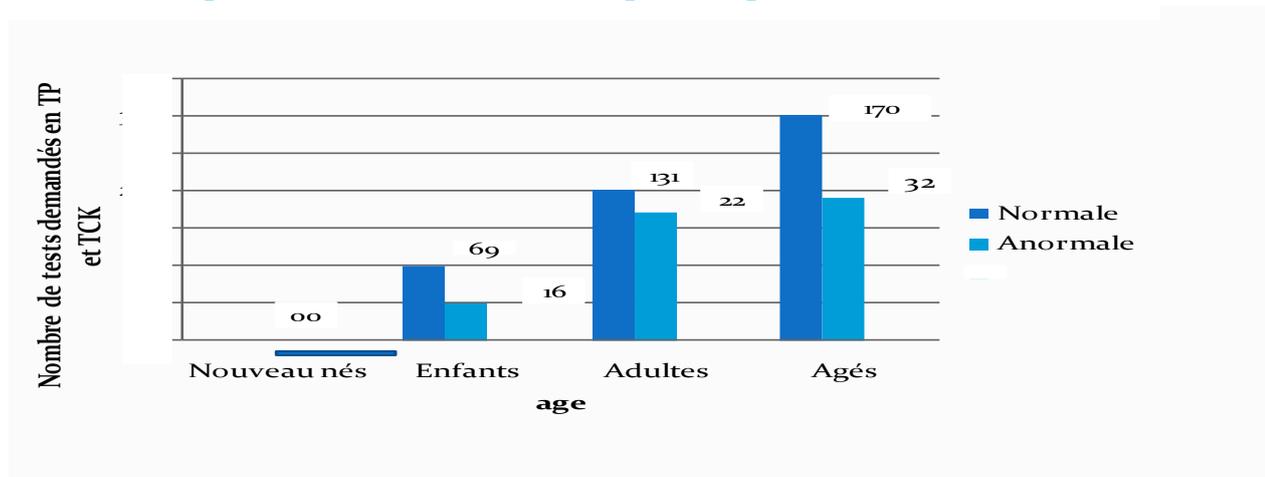


Figure 7 : tests demandés en TP et TCK en fonction de l'âge

❖ La vitesse de sédimentation

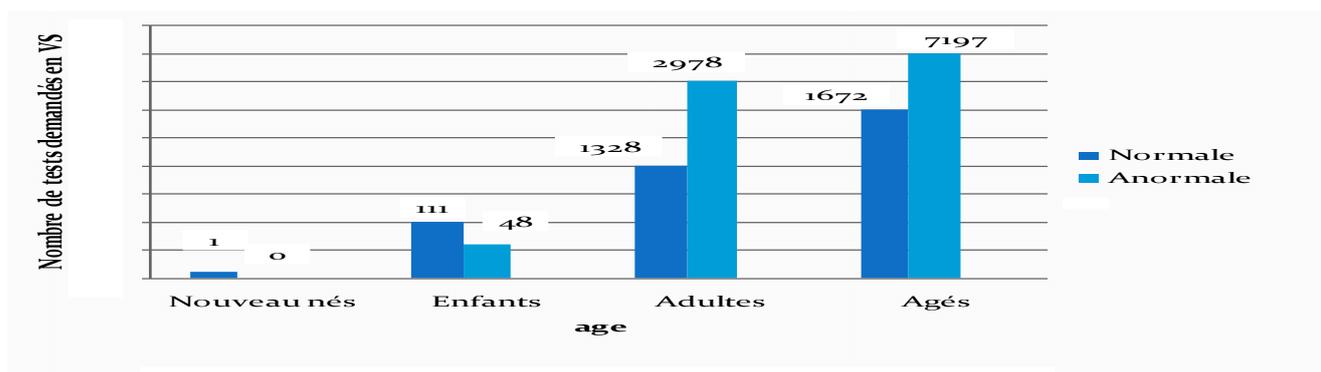


Figure 8: tests demandés en VS en fonction de l'âge

❖ Toxoplasmose (TOX) et Rubéole (RUB)

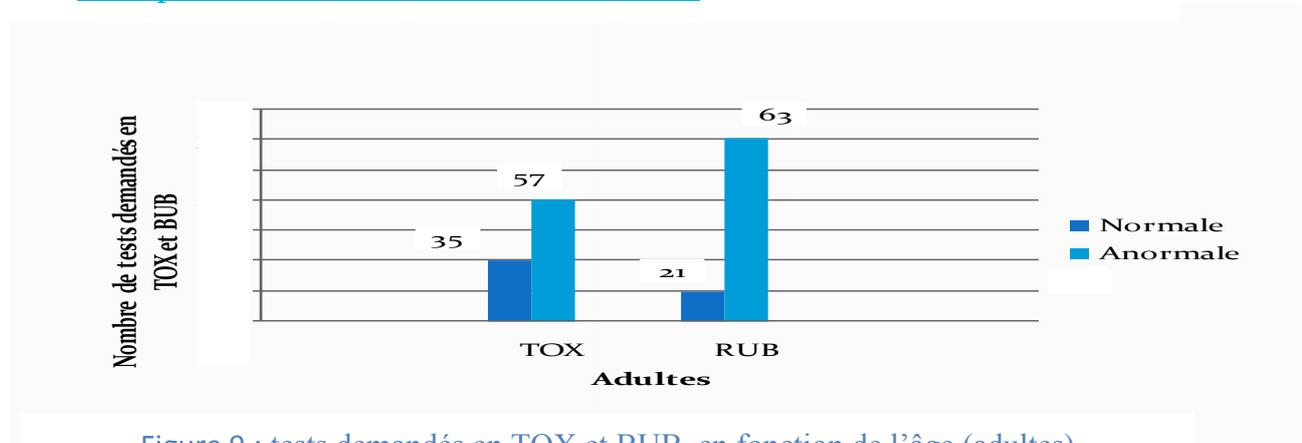


Figure 9 : tests demandés en TOX et RUB en fonction de l'âge (adultes)

❖ Hépatite B (HBs) et Hépatite C (HCV) :

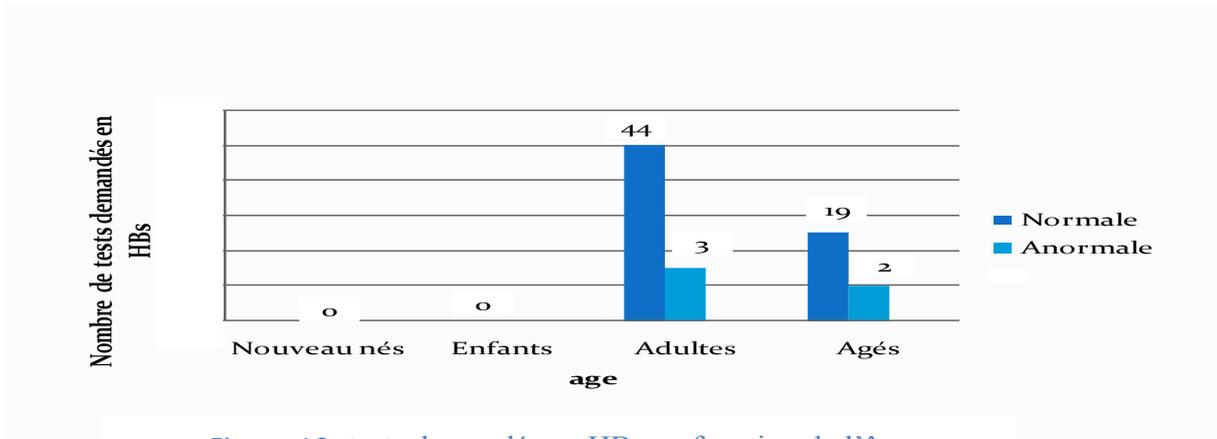


Figure 10: tests demandés en HBs en fonction de l'âge

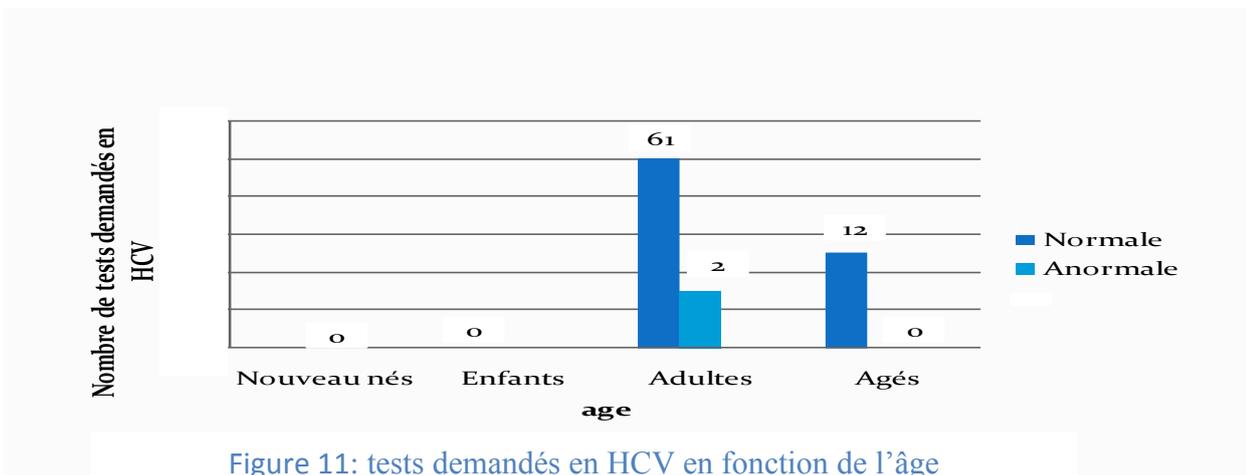


Figure 11: tests demandés en HCV en fonction de l'âge

❖ Veneral disease research laboratory (VDRL) et Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA) :

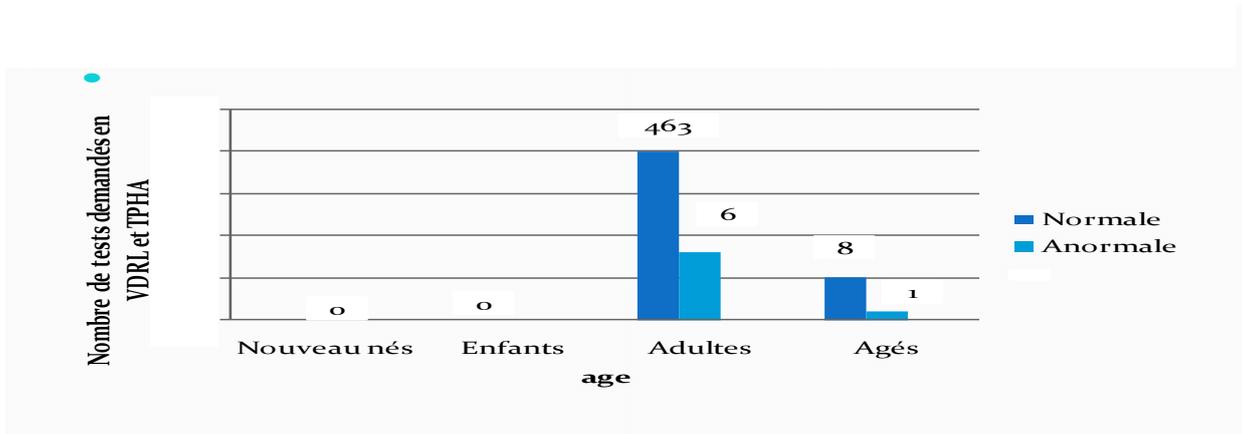


Figure 12: tests demandés en VDRL et TPHA en fonction de l'âge

❖ Anti-streptolysineO (ASLO) :

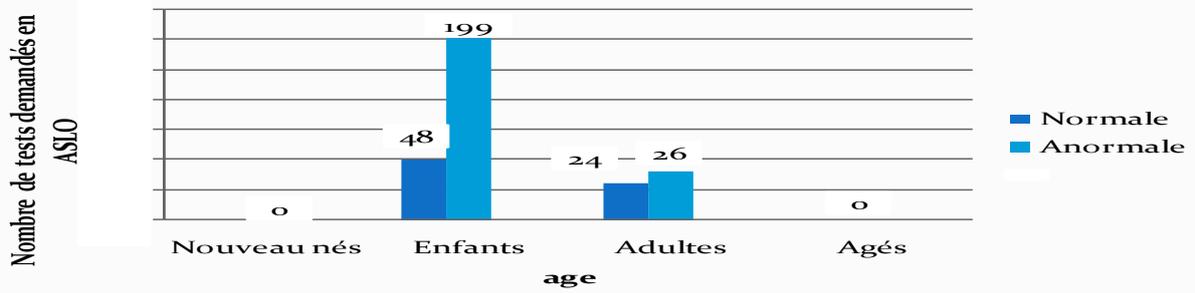


Figure 13: tests demandés en ASLO en fonction de l'âge

❖ C-reactive protein (CRP) :

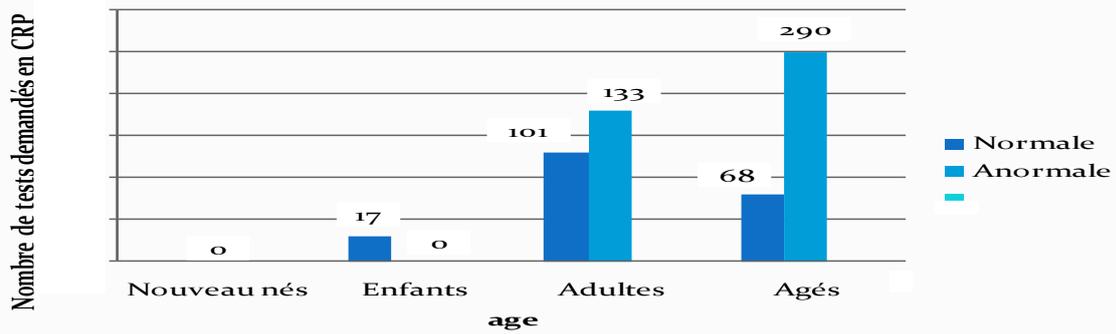


Figure 14: tests demandés en CRP en fonction de l'âge

❖ Taux d'antigène spécifique de la prostate (TPSA)

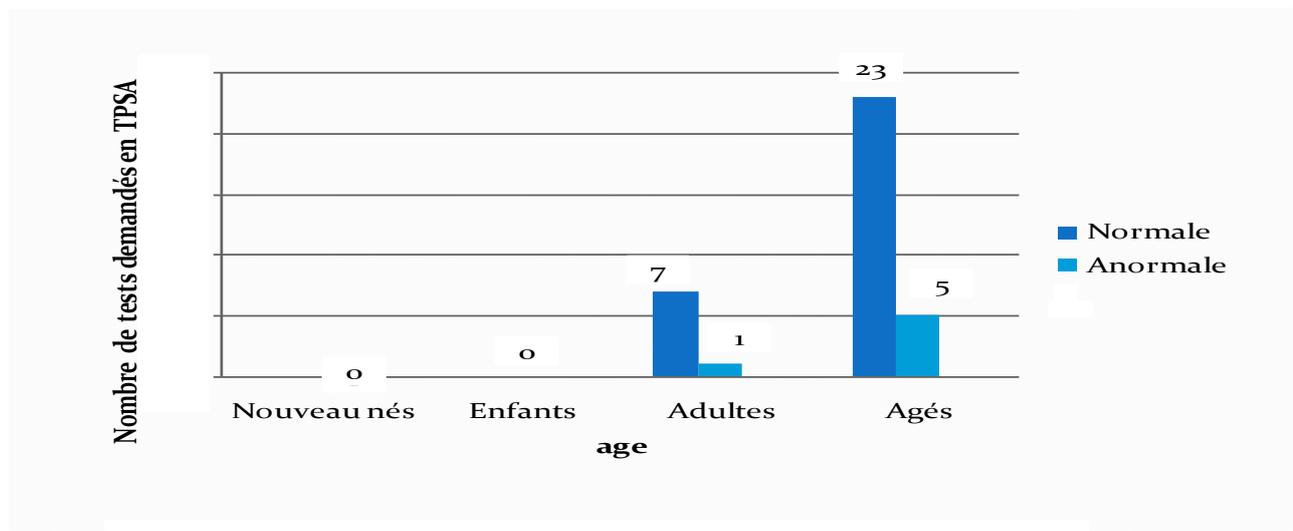


Figure 15: tests demandés en TPSA en fonction de l'âge

❖ Dosage des hormones libres FT3, FT4 :

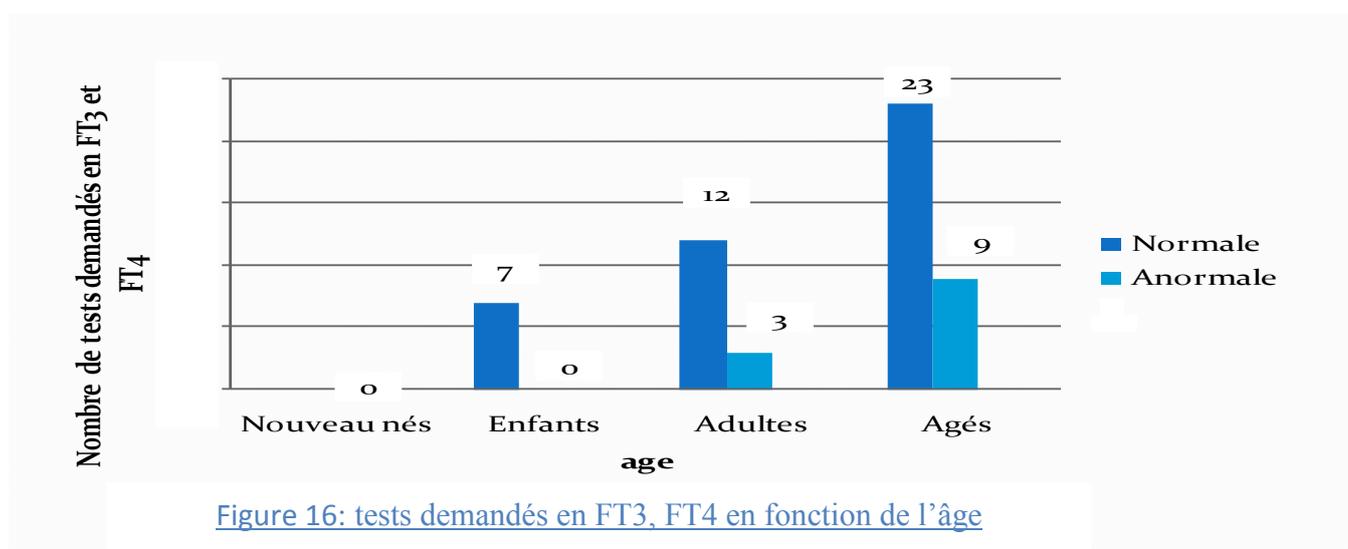


Figure 16: tests demandés en FT3, FT4 en fonction de l'âge

Tableau 29: les résultats des tests obtenus en fonction de l'âge.

Tests demandés	Valeurs anormales			
	N nés	Enfants	Adultes	Personnes agés
La numération formule sanguine (NFS)	+ (30 tests aN)	++ (1050 tests aN)	+++ (4900 tests aN)	+++++ (7020 tests aN)
Le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline kaolin (TCA)	-- (00 tests aN)	+ (16 tests aN)	++ (22 tests aN)	+++ (32 tests aN)
La vitesse de sédimentation (VS)	-- (00 tests aN)	++ (48 tests aN)	+++ (2978 tests aN)	+++++ (7197 tests aN)
Toxoplasmose (TOXO)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	++ (57 tests aN)	-- (00 tests aN)
Rubéole (RUB)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	++ (63 tests aN)	-- (00 tests aN)
Hépatite B (HBs)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	++ (03 tests aN)	+ (02 tests aN)
Hépatite C (HCV)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	++ (02 tests aN)	-- (00 tests aN)
Venereal disease research laboratory (VDRL) et Treponema pallidum hemagglutination assay (TPHA)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	++ (06 tests aN)	+ (01 tests aN)
Anti-streptolysineO (ASLO)	-- (00 tests aN)	+++ (199 tests aN)	++ (26 tests aN)	-- (00 tests aN)
C-reactive protein (CRP)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	+++ (133 tests aN)	+++++ (290 tests aN)
Taus d'antigène spécifique de la prostate (TPSA)	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	+ (01 tests aN)	++ (05 tests aN)
Dosage des hormones libres FT3 et FT4	-- (00 tests aN)	-- (00 tests aN)	+ (03 tests aN)	++ (09 tests aN)

CONCLUSION

Pendant la période passée aux services du Centre hospitalier EL GHASSANI, je me suis familiarisée avec un environnement technique et un ensemble de méthodes d'analyses médicales qui sont avérés être très lucratifs pour mon expérience professionnelle aussi bien en ce qui concerne le domaine technique que l'aspect humain. En plus, visiter tous ces services m'a permis d'avoir une vision détaillée sur cette discipline en terme d'organisation, de gestion, pratique...

Le fait de travailler en équipe et utiliser des procédés et des méthodes existantes m'a permis de m'intégrer dans un groupe de travail et de voir en quoi consistait le travail d'un biologiste au sein d'un établissement sanitaire.

En générale on peut avancer les conclusions suivantes :

- les tests les plus demandés dans le laboratoire sont : NFS, VS, CRP, VDRL et TPHA et sont des tests demandés chez les femmes enceintes et les personnes âgées.
- Les plus testées sont les femmes enceintes et les personnes âgées.
- Les femmes ont plus des valeurs anormales que les hommes dans la majorité des tests effectués dans le laboratoire donc le sexe est un paramètre qui joue un rôle important dans l'évolution des valeurs des analyses.
- Les personnes âgées ont plus des valeurs anormales que les adultes, les enfants et les nouveau nés dans la majorité des tests effectués dans le laboratoire donc l'âge est un paramètre qui joue un rôle important dans l'évolution des valeurs des analyses.

