UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

***F**ACULTE **D**ES **S**CIENCES **E**T **T**ECHNIQUES*

FES

Spécialité : Biologie et Santé

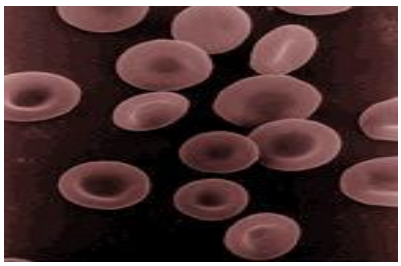
Rapport du Projet de Fin d'Etudes

Présenté par :

Sanae TICHOUT

SUJET :

FORMATION THÉORIQUE ET PRATIQUE EN HÉMATOLOGIE BIOCHIMIE ET SÉROLOGIE



Encadré par :

- **Mme Karima MIKOU** (Professeur FST)
- **Mr Mostafa MRIOUCH** (Médecin biologiste à l'hôpital Med V de Sefrou)

Soutenu le 16 Juin 2010 devant le jury :

- **Mme Karima MIKOU : Président**
- **Mme Sanae GUISSI (Professeur FST) : Examinatrice**
- **Mr Mostafa MRIOUCH : Encadrant**

Dédicaces

A mes parents qui m'ont aidés moralement et matériellement durant mes études, et pour :

- *Leur amour*
- *Leur affection*
- *Leur précieux conseil*

Aucune phrase ne saurait exprimer mon grand et profond amour.

*A **ma sœur et mon frère** pour leur amour véritable et sincère.*

*A **mes formateurs** qui ont veillé sur ma formation, en me*

Transmettent leurs connaissances.

*A **mes amis**, en souvenir du temps que nous passions ensemble.*

*A **toutes les personnes** qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Et à toi aussi **lecteur, lectrice.**…*

Remerciements

*A*u terme de ce travail j'ai le plaisir d'exprimer mes sincères remerciements et ma haute gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidées à réaliser ce travail et envers qui je me sentirai reconnaissante durant toute ma vie

*J*e tiens tout d'abord à remercier mes professeurs **RACHID BENCHEIKH et TAZI ABDELALI** que je respecte beaucoup.

*U*n grand merci à mon encadrant Dr **MRIOUCH MUSTAPHA** qui m'a accueilli dans son laboratoire, et qui m'a formé et accompagné tout au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de patience et de pédagogie.

*M*es remerciements sincères et dévoués à Madame **MIKOU KARIMA** qui a accepté de m'encadrer et aussi de faire un suivi avec moi tout au long du stage, elle m'a guidée et soutenue, je la remercie vivement pour tout…

J'aimerai exprimer mes remerciements anticipés aussi à Madame **GUISSI SANAE** d'avoir pris la responsabilité d'examiner mon travail.

*J*e tiens également à remercier toutes et tous les assistants médicaux et les techniciens du laboratoire : **Mr.Bouchta, Mr.Youssef, Mr.Jawad, Mr.Hamid, Mr.Lhabib, Mr.Mustapha, Mr.Mohamed, Mme Rahma et Mme Fatiha** qui m'ont beaucoup appris au cours de ce stage et qui ont la gentillesse d'en faire un moment très profitable.

*E*n fin je remercie toute personne ayant contribué au bon déroulement de ce stage dans les meilleures conditions.

Merci à tous…

Sommaire

Objectif de stage	1
Présentation de la structure d'accueil	2
1- Présentation de l'hôpital Mes V	2
2- Présentation de laboratoire d'analyses médicales	2
Partie I : Données bibliographiques	4
1- Les analyses médicales	4
2- Les étapes des analyses médicales	4
2-1- Le stade pré analytique	4
2-2- Le stade analytique	4
2-3- Le stade post analytique	4
3- Les différents types d'analyses médicales	5
3-1- L'hématologie	5
3-1-1- Définition	5
3-1-2- Les cellules circulantes dans le sang	5
3-1-3- L'hémogramme	5
3-1-3-1-L'hématocrite	7
3-1-3-2- L'hémoglobine	7
3-1-3-3- Le volume globulaire moyen	7
3-1-3-4- La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine	8
3-1-3-5- La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	8
3-1-4- Les groupes sanguins	8
3-1-4-1- Détermination du groupe sanguin	9
3-1-4-2- Détermination du système rhésus	9
3-1-5- La vitesse de sédimentation	9
3-1-6- La coagulation	9
3-1-6-1- Définition	9
3-1-6-2- Les paramètres de la coagulation	10
3-1-6-2-1- Le taux de prothrombine ou temps de quick	10
3-1-6-2-2- Le temps de céphaline kaolin	10
3-2- La sérologie	10
3-2-1- Définition	10
3-2-2- La syphilis	11
3-2-3- Les streptocoques (antistreptolysines O)	11
3-3- Analyse biochimique	12
3-3-1- Les paramètres de la biochimie	12
3-3-1-1- Les ions et les électrolytes sanguins	12
3-3-1-2- Le bilan lipidique	13
3-3-1-3- La glycémie	14
3-3-1-4- Analyses enzymologiques	15
3-3-1-5- Le fer sérique	16
3-3-1-6- La protéine C réactive (CRP)	17
Partie II : Matériels et méthodes	18
1- Matériel biologique	18
2- Méthodes	18

2-1- L'hématologie	18
2-1-1- L'hémogramme	18
2-1-2- Réalisation du frottis sanguin	18
2-1-3- Détermination des groupes sanguins	21
2-1-4- Détermination des paramètres de la coagulation	23
2-1-4-1- Le taux de prothrombines	23
2-1-4-2- Le temps de céphaline kaolin	23
2-2- La sérologie	23
2-2-1- Le VDRL	23
2-2-2- Le TPHA	24
2-2-3- ASLO	25
2-3- La biochimie	26
2-3-1- Dosage par automate	26
2-3-2- Dosage manuel en cas d'urgence	26
2-3-2-1- La glycémie	26
2-3-2-2- L'urée	26
Partie III : Résultats et discussions	27
1- Hématologie	27
a- Résultat d'une NFS	27
b- Résultat d'un frottis sanguin	28
c- Résultat d'un TP et TCK	29
2- Exemple de résultat sérologique : Test TPHA	29
3- Exemple de résultat biochimique	30
Partie IV : Conclusion générale	32
Partie V : Références bibliographique	33

Objectif de stage

La formation des étudiants de Licence à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès se termine par un stage de fin d'études dans un laboratoire de recherche. Ce stage, de deux mois, vise à préparer l'étudiant au monde du travail et à concrétiser les connaissances théoriques reçues tout au long de son cursus universitaire.

Ce stage, réalisé au laboratoire d'Analyses médicales au centre hospitalier provincial de Sefrou, a consisté à prendre connaissance des méthodes d'analyses utilisées dans le laboratoire à savoir les analyses biochimiques, microbiologiques, hématologiques ou encore sérologiques. On s'est également intéressé à l'intérêt clinique des paramètres dosés ainsi qu'à l'équipement nécessaire pour la réalisation de ces analyses.

Présentation de la structure d'accueil

Notre stage a été effectué au laboratoire d'analyses médicales à l'hôpital Mohamed V de Sefrou

1- Présentation de l'hôpital Mohamed V

L'hôpital Mohamed V a été construit en 1971. Il a été classé à l'époque en tant qu'hôpital de zone. Depuis la création de la province administrative à Sefrou en1992, il joue le rôle d'un hôpital provincial, et depuis 1998, l'hôpital est considéré comme un centre hospitalier provincial. En dehors de la création du service des urgences et du laboratoire d'analyse médicale, son plateau technique reste sans changements jusqu'en 1993.Cependant, plusieurs projets ont été réalisés ces deux dernières années, à savoir l'extension de la maternité après construction d'un bloc dans le cadre de la coopération maroco-japonaise (JICA), la construction d'un centre d'hémodialyse et d'un broyeur. Ces projets, d'une grande importance pour la prise en charge de la population cible et la protection de l'environnement par le traitement des déchets hospitaliers, sont actuellement fonctionnels. Le projet de l'antenne de sang reste jusqu'au nos jours non fonctionnel par manque d'effectif.

Le CHP (l'hôpital Med V) assure les disciplines suivantes :

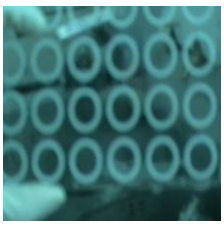
-Médecine	- Chirurgie
-Traumatologie	- Pédiatrie
-Gynécologie obstétrique	- Tabacologie
- Anesthésie	- Médecine de travail
- Cardiologie	- Pneumo-phtisiologie
- Hémodialyse	- Rhumatologie
- Gastro-entérologie	- Médecine de sport

2- Présentation du laboratoire

Le laboratoire d'analyses médicales où j'ai effectué mon stage est sous la direction d'un médecin biologiste. Le laboratoire est doté d'appareils classiques (Centrifugeuses, étuves, agitateurs, réfrigérateur pour la conservation des réactifs) et des automates dans une salle technique pour la réalisation des analyses. Ces automates permettent de réaliser un certain nombre d'analyses médicales en un temps limité. L'augmentation des demandes d'analyses biologiques a exigé, en effet, l'apparition d'automates de plus en plus rapides et fiables au sein des laboratoires d'analyses médicales. Le tableau 1 ci- dessous présente les

différents automates utilisés dans le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Mohamed V de Sefrou.

Tableau 1. Quelques appareils utilisés au laboratoire

Appareil	**Description**
  Sysmex kx-21N Agitateur	Sysmex kx-21N est un automate qui permet la réalisation de la numération formule sanguine (NFS° L'agitateur homogénéise les flacons de la NFS.
  BisystemsA15+ Biosystems BTS-310 (Sspectrophotomètre)	Ces automates réalisent des réactions chimiques, enzymatiques ou immunologiques dans le but de doser un composé chimique ou sérologique dans un liquide biologique de l'organisme (sang, urine, liquide d'épanchement ou de ponction). Ils permettent aussi le dosage de la densité optique dans les différents éléments contenus dans les différents liquides biologiques
 Sysmex Ca-50	Cet automate permet de réaliser les temps de coagulation pour la surveillance des traitements anticoagulants, l'évaluation des fonctions hépatiques, le bilan de l'hémostase.
  Plaque Latex	Ces plaques d'agglutination permettent le diagnostic de certaines maladies comme la syphilis, etc.

Partie 1.
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 concoure 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.

2- les étapes des analyses médicales

2−1− Stade pré analytique

La phase pré analytique englobe la totalité des actes réalisés entre la prescription de l'analyse par le médecin el la réalisation de celle-ci par le laboratoire. Elle consiste en une préparation du patient qui doit être mis au repos pour le prélèvement, le patient peut être à jeun ou non selon le type d'analyse. Le choix du moment du prélèvement est également d'une grande importance pour le diagnostic. Les prélèvements sont réalisés d'habitude entre 8h 30 min et 10h 30 min du matin, généralement 12 heures après le dernier repas et avant les soins ou la prise de médicaments.

Certaines précautions spécifiques à chaque analyse doivent être prises : flacon citraté pour bilan d'hémostase, EDTA pour la NFS, fluorure de lithium pour la biochimie, etc.

2-2- Stade analytique

Selon le laboratoire et le domaine de science, la phase analytique utilise de plus en plus souvent des automates très sophistiqués qui permettent d'améliorer la rapidité et la reproductibilité des résultats.

2-3- Stade post analytique

C'est le stade de la prescription des résultats pour les rendre au patient, le biologiste responsable du labo doit veiller à cette étape là, à l'étude des résultats, à leur cohérence, et à leur validation puis à leur retour au médecin avec plus au moins des remarques en cas de nécessité.

3- les différents types d'analyses médicales

On peut classer les analyses médicales réalisées au laboratoire en trois catégories principales : Hématologie (cytologie, hémostase, immunohématologie), Biochimie et Immunologie.

3-1- Hématologie

3-1-1- Définition

L'hématologie étudie la physiologie et la pathologie du sang. Les analyses hématologiques sont pratiquées sur le sang pour permettre le diagnostic ou le suivi de certaines maladies. Le sang est composé d'un liquide, le plasma, dans lequel flottent des cellules (éléments figurés) et un grand nombre de substances (protéines, hormones, vitamines, etc.…).

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**.**

3-1-2- les cellules circulantes dans le sang

Il y en a trois types : les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes**.**

3-1-3-L'hemogramme

L'hémogramme, numération formule sanguine (NFS), examen hématologique complet ou hémato complet est l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figurés du sang : globules rouges, globules blancs et plaquettes. Elle est faite au moyen d'une simple prise de sang, le prélèvement se réalise sur un tube contenant une solution anticoagulante (EDTA), puis l'analyse est effectuée par un automate qui mesure le nombre d'érythrocytes, de globules blancs et de plaquettes.

Des paramètres liés à ces éléments sont également mesurés pour certains (taux d'hémoglobine, volume globulaire moyen = VGM) ou calculés (hématocrite, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine = TCMH, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine = CCMH). D'autres indices (Indice de distribution des globules rouges ou des plaquettes) peuvent également être calculés par les automates de numération.

Cet examen est essentiel pour apprécier un dysfonctionnement de la moëlle osseuse ou des perturbations dites "périphériques" (anémies, augmentation des globules blancs en réponse à une attaque de l'organisme, problème de coagulation et consommation des plaquettes…). Il est associé généralement à une "Formule sanguine", qui est la partie qualitative de l'hémogramme.

Tableau 2. Les éléments figurés du sang. Aspect et quelques caractéristiques

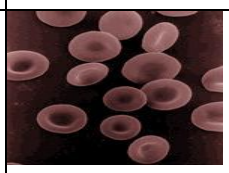
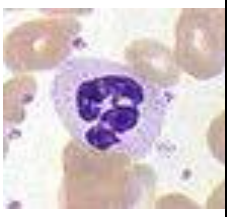
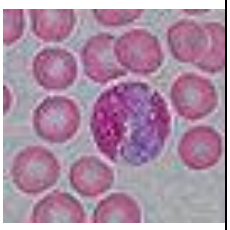
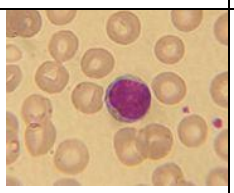
Type		Aspect	Description
Globules rouges			Cellules dépourvues de noyau, dont le cytoplasme est riche en hémoglobine et dépourvu d'organites. Ces cellules assurent le transport des gaz respiratoires (l'O_2 et le CO_2)
Globules blancs	**Neutrophiles**		Responsables de la défense contre les infections bactériennes et autres processus inflammatoires. Le noyau est polylobé et le cytoplasme légèrement acidophile, renferme des granulations très fine.
	Eosinophiles		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.
	Basophiles		Responsables des réponses allergiques et inflammatoires en libérant de l'histamine, ils sont caractérisés par de grosses granulations basophiles violettes.
	Lymphocytes		Deuxième cellule la plus importante après le neutrophile, son augmentation est le plus souvent signe d'une infection en particulier une infection virale.
	Monocytes		Ce sont les plus grandes cellules circulantes dans le sang, possèdent un noyau encoché, un cytoplasme gris-bleu et contient quelques granulations azurophiles.
Plaquettes			Fragments dépourvus de noyau. leur rôle principal est la coagulation du sang.

Tableau 3. Hémogramme. Valeurs normales

	3 à 10 ans	Femme	Homme
Hématies (millions /mm^3)	3.5- 5.0	4.0 - 5.3	4.2 - 5.7
Hémoglobine (g /100 ml)	12.0 - 14.5	12.5 - 15.5	14.0 - 17.0
Hématocrite (%)	36 - 45	37 - 46	40 - 52
VGM (µ^3)	74 - 91	80 - 95	80 - 95
TCMH (pg)	24 - 30	28 - 32	28 - 32
CCMH (%)	28 - 33	30 - 35	30 - 35
Leucocytes (/mm^3)	4500 - 13000	4000 - 10000	4000 - 10000
Plaquettes (/mm^3)	150 - 400	150 - 400	150 - 400

3-1-3-1- 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.

3-1- 3-2- 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.

3-1-3-3- Le volume globulaire moyen (VGM)

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 :

VGM = Hématocrite (%) / Nombre d'hématies (million/mm^3)

Chez l'adulte le VGM normal varie entre 80 à 100 µm^3. Lorsque le VGM est diminué, les globules rouges sont diminués on parle de microcytose, et lorsqu'il est augmenté, les globules rouges sont augmentés on parle d'une macrocytose. Il possible de classer les anémies en anémies microcytose ou macrocytose.

3-1-3-4 - La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

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

$$TCMH\ (pg) = \frac{\text{Hémoglobine (g/100ml)}}{\text{Nombre des hématies (million/mm}^3\text{)}}$$

La TCMH est considérée comme l'un des meilleurs indices d'un déficit de synthèse de l'hémoglobine. Ces variations apparaissent plutôt que celle de la CCMH**.**

3-1-3-5-La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

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 **:**

CCMH (%) = Hémoglobine (g/100ml) / Hématocrite (%)

Si la CCMH < 32% : une anémie hypochrome

Si 32% < CCMH<36% : une anémie normochrome

La CCMH ne peut pas dépasser 36%, donc il n'y a pas d'hyperchromie, car ce pourcentage correspond à une saturation du globule rouge en hémoglobine, au-delà de ce chiffre il y a une cristallisation avec précipitation incompatible avec le bon fonctionnement de l'hématie.

3- 1-4- Les groupes sanguins

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substances antigéniques héritées à la surface des globules rouges (hématies). Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin, et certains de ces antigènes sont également présents à la surface d'autres types de cellules de différents tissus.

Les divers groupes sanguins sont regroupés en systèmes, mais le plus utilisé est le système ABO.

3-1-4-1-Détermination du groupe sanguin

La technique utilisée **: le beth-vincent**

Cette méthode s'effectue avec des sérums test contenant des anticorps connus, afin de mettre en évidence la réaction Antigène - Anticorps. La présence ou l'absence d'agglutination permet de déterminer l'Antigène. Une deuxième technique **: simonin** permet d'identifier les Anticorps naturels réguliers du plasma.

3-1- 4−2− Détermination du système rhésus

La détermination du caractère rhésus ou présence de l'antigène D, fait partie intégrante de la détermination du groupe sanguin et s'effectue en même temps que le groupage ABO.

Le groupage rhésus s'effectue seulement par une épreuve globulaire, c'est-à-dire par la recherche de l'antigène à l'aide de sérums tests anti-D**.** La connaissance des groupes sanguins a permis d'établir des règles de transfusion à respecter impérativement. En effet, le non respect de ces règles risque d'entraîner la mort du malade. Ainsi, avant toute transfusion sanguine, il faut connaître le groupe sanguin du receveur et celui du donneur.

3- 1-5- La vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation est 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. Cette analyse consiste à observer la sédimentation des globules rouges du sang et mesure, au bout d'une heure et deux heures, la hauteur du plasma surnageant. Elle est utilisée pour le dépistage et la surveillance des processus inflammatoires et infectieux. Les valeurs normales de la vitesse de sédimentation sont de 3 à 15 mm chez l'homme, de 7 à 20 mm chez la femme et de 0 à 10 mm chez l'enfant.

3- 1-6- La coagulation

3- 1-6-1- Définition

La coagulation sanguine est un processus complexe durant lequel le sang forme des caillots solides. C'est une partie importante de l'hémostase où la paroi endommagée d'un vaisseau sanguin est couverte d'un caillot de fibrine pour arrêter l'hémorragie et aider à réparer le vaisseau endommagé.

La coagulation comporte une cascade de réactions enzymatiques impliquant les facteurs de la coagulation dont plusieurs sont des protéases comportant une série au niveau du site actif et soumises à des activations et à des inhibitions. L'étape finale est la

transformation du fibrinogène soluble en filament de fibrine qui encercle dans leurs mailles les cellules circulantes.

Les facteurs de la coagulation sont désignés par des numéros allant de I à XIII. A l'exception du facteur XIII qui intervient dans la dernière étape de la coagulation, les autres facteurs interviennent dans l'ordre inverse de leur numérotation ; ainsi le facteur XII initie la coagulation et le facteur I la termine. Chaque facteur existe sous forme de précurseur inactif et sous forme activée, indiquée par la lettre a.

La coagulation met en jeu deux voies, l'une intrinsèque, l'autre extrinsèque, aboutissant à une voie finale commune.

La voie intrinsèque comporte les facteurs présents dans la circulation, et la voie extrinsèque, les facteurs tissulaires non présents normalement dans la circulation mais qui sont libérés lors d'une lésion vasculaire. Le facteur Xa est le carrefour de rencontre de la voie intrinsèque et de la voie extrinsèque.

3-1-6-2-Les paramètres de la coagulation

3- 6- 2-1- le taux de prothrombine ou temps de quick (TP) :

Le taux de prothrombine est un test de coagulation : c'est le temps de coagulation (recalcification) du plasma citraté en présence d'un extrait tissulaire, la thromboplastine. Le résultat est exprimé en pourcentage par rapport à un témoin. Le taux normal est de 100 %.

3-1-6-2-2-Le temps de céphaline kaolin (TCK)

C'est le temps de coagulation à 37°c d'un plasma déplaqueté, citraté puis recalcifié en présence de céphaline et d'un activateur du système contact de la voie intrinsèque qui peut être le kaolin. Les valeurs normales sont comprises entre 30 et 40 secondes.

3-2- La sérologie

3-2-1- Définition

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.

La sérologie s'effectue sur un prélèvement sanguin veineux. Pour établir un diagnostic, deux prélèvements espacés de deux à quatre semaines sont souvent utiles pour montrer une ascension marquant une infection récente. Les dépistages nécessitent en général un seul prélèvement.

Généralement, la sérologie consiste à évaluer l'immunité à une maladie en mesurant la quantité d'anticorps spécifiques de celle-ci.

Il y a plusieurs types de sérologie :

Sérologie virale.

Sérologie bactérienne.

Sérologie parasitaire.

Dans notre cas on va traiter seulement la sérologie bactérienne qui teste en premier ordre la **syphilis** et les **streptocoques**.

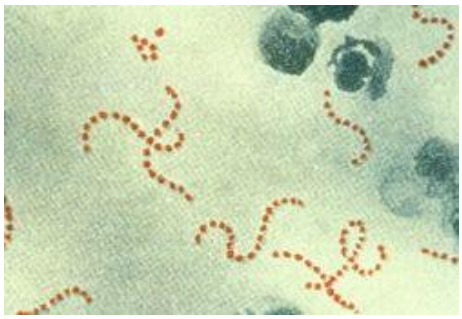
3-2-2- La syphilis

La syphilis est causée par la bactérie *Treponema pallidum*. C'est une maladie complexe qui provoque divers symptômes aux différents stades de l'infection. Si elle n'est pas soignée, elle peut entraîner des complications graves.

La syphilis est transmise par contact sexuel (vaginal, anal ou buccogénital) avec une personne infectée. La bactérie de la syphilis se transmet en particulier par contact direct avec les plaies syphilitiques qui apparaissent principalement dans la région génitale des hommes aussi bien que des femmes.

Il existe plusieurs façons de diagnostiquer la syphilis, une analyse de sang permet de la diagnostiquer par le test de TPHA (treponema pallidum d'hemagglutination assay) ou par VDRL (Venereal Disease Research Laboratory).

3-2- 3- les streptocoques (les streptolysines O)



Les streptocoques

Les streptocoques sont définis comme des cocci à Gram positif disposés, le plus souvent en chaînettes. Ils appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*.

Il y a trois types des streptocoques principaux qui sont pathogènes pour l'homme :

- Streptocoques de groupe A ou pyogènes.
- Streptocoques de types B ou agalactia.
- Streptocoques pneumonie.

Les infections par les Streptocoques donnent lieu à la production d'anticorps, en particulier de type ASLO (Anti-Streptolysine O). Le dosage de ces anticorps (ASLO) permet d'affirmer l'origine streptococcique.

3-3- 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, et,). 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.

3-3-1- Les paramètres de la biochimie

3-3-1- 1- Les ions et les électrolytes sanguins

a- L'urée

L'urée sanguine est un composé organique de formule chimique CO $(NH_2)_2$ qui provient du métabolisme des protéines et des acides aminés par transamination ou par désamination. Elle est formée dans le foie à partir de l'ammoniac. Elle passe dans la circulation sanguine et elle est éliminée essentiellement par le rein. Les valeurs normales sont entre 0,15 et 0,5 g/l.

b- Acide urique

L'acide urique est le produit ultime du catabolisme des bases puriques, l'adénine et la guanine qui rentrent dans la structure des acides nucléiques. Son dosage est essentiellement utilisé pour le dépistage de la goutte, maladie très douloureuse qui s'accompagne d'une augmentation de l'acide urique dans le sang. Les valeurs normales sont entre 25 et 70 mg/l.

Une augmentation d'acide urique (> 70mg/l, hyperuricémie) est un facteur de risque de développer de la goutte, elle peut aussi refléter une insuffisance rénale chronique. Par contre, une diminution d'acide urique (<25mg/l, hypouricémie) peut refléter une insuffisance hépatique ou un cancer.

c- **Créatinine**

La créatinine est un produit de dégradation de la créatine. La créatine est formée dans le foie à partir de la glycine, l'arginine et de la méthionine, elle est véhiculée par le sang vers le muscle qui la transforme en créatine phosphate grâce à une enzyme la créatine phosphorylase pour constituer une réserve d'énergie. Au cours de son utilisation par le

muscle, la créatine va se déshydrater spontanément en créatinine qui passe dans le plasma puis sera éliminé par le rein.

Le dosage de la créatinine aide pour le diagnostic de l'insuffisance rénale. Les valeurs normales sont entre 6 à 12 mg/dl. Mais, La créatinine est augmentée (>12mg/dl) en cas de l'insuffisance rénale aigue ou chronique, ett elle est diminuée (< 6mg/dl) en cas de myopathie.

e- Le phosphore et le calcium

Absorbé activement par l'intestin selon les besoins, le phosphore se fixe sur l'os et les tissus mous, il est éliminé par le rein, 1% seulement du pool de phosphore présent dans l'organisme se trouve dans le milieu extracellulaire. Le phosphore organique participe à la constitution de molécules lipidiques, glucidiques, protéiques et nucléiques il contribue à la mise en réserve et au transfert énergétique qui utilise l'ATP.

Le calcium est un cation qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme phospho-calcique, il est présent dans le tissu osseux, le cartilage, les dents et les liquides intra et extracellulaires, il intervient dans l'excitabilité neuro-musculaire, l'hémostase, etc.

Les valeurs normales du phosphore sont entre 30 à 40 mg/l. Celles du calcium sont entre 85 à 105 mg/l.

Toute augmentation du phosphore peut être causée par une hypoparathyroïdie, une insuffisance rénale, ou une intoxication à la vitamine D. Sa diminution est observée au cours de l'hyperparathyroïdie par exemple.

3 -3- 1 – 2- Le bilan lipidique

a- **Cholestérol total**

C'est une substance lipidique (de nature graisseuse) complexe présent dans les graisses d'origine animale et dans l'huile. Le cholestérol est un stéroïde indispensable pour le renouvellement et la synthèse des membranes de toutes les cellules de l'organisme. Il entre également dans la synthèse de plusieurs hormones stéroïdes. Le foie joue un rôle essentiel dans sa fabrication.

Le cholestérol peut être classé en cholestérol HDL (High Density Lipoprotein) et cholestérol LDL (Low Density Lipoprotein).

Le HDL récupère le cholestérol qui se dépose dans les vaisseaux et le ramène au foie pour qu'il soit détruit. 20 à 30% de cholestérol est associé aux HDL.

Le LDL prend le cholestérol au foie et l'emmène dans l'organisme, c'est ce cholestérol qui a tendance à se déposer dans les artères et à les obstruer. 60 à 80% de cholestérol dans le sang est associé aux LDL.

Les analyses de cholestérol sont demandées dans une démarche de prévention des maladies cardiovasculaires. Elles permettent de mieux évaluer le risque cardiovasculaire d'un individu et ainsi de décider de la mise en oeuvre d'un traitement diététique et médicamenteux visant à normaliser les taux de lipides ou graisses dans le sang.

Les valeurs normales de cholestérol total sont de 1,5 à 2 g/l. Ces valeurs peuvent être augmentées en cas d'un repas riche en graisse, de grossesse ou de diabète sucré. Elles sont diminuées en cas de jeŭne ou d'une malnutrition.

Les valeurs normales de HDL sont de 0,30 à 0,60 g/l. Une augmentation du HDL peut être due à une activité physique intense par exemple. La diminution de HDL est causée par le tabac, l'alcoolisme, l'obésité et l'athérosclérose.

Les valeurs normales de LDL sont de 1 à 1,5 g/l. Le tabac, l'alcoolisme, l'athérosclérose peuvent provoquer une augmentation de LDL.

b- Les triglycérides

Les triglycérides font parties comme le cholestérol de la famille lipidique de l'organisme, ils constituent la principale source énergétique et sont stockés dans le tissu adipeux.

L'évaluation du taux de triglycérides est importante pour évaluer un potentiel risque athérogène avec atteinte cardiovasculaire.

Les valeurs normales sont entre 0,4 à 1,5 g/l. Le diabète sucré, le tabac, l'alcool provoquent l'augmentation des triglycérides ; tandis qu'un régime pauvre en lipides, ou une malnutrition causent une diminution des triglycérides.

3- 3- 1-3- La glycémie

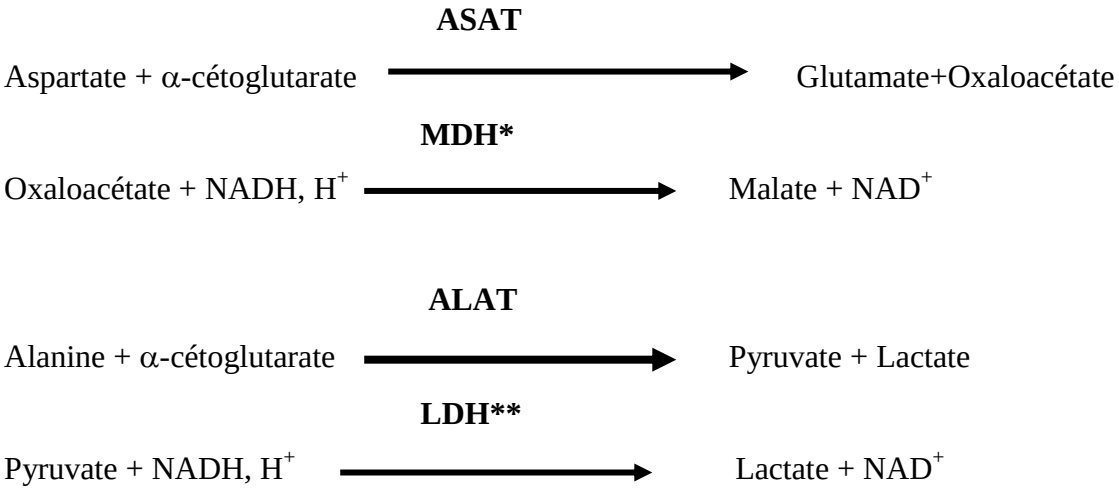
La glycémie désigne le taux de glucose (sucre) dans le sang. Le glucose fait partie de la famille des glucides qui est la principale source énergétique de l'organisme humain. Le muscle et le foie constituent les réserves les plus importantes de glucose sous forme de glycogène.

Le dosage de la glycémie est utilisé pour le diagnostic du diabète. Les valeurs normales sont situées entre 0,7 et 1,1g/l. Si la glycémie est supérieure à 1,1 g/l on parle d'une hyperglycémie, Si la glycémie est inférieure à 0,7 g/l on parle d' une hypoglycémie.

3- 3- 1- 4 – Analyse enzymologique

a- Les transaminases

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules, elles transportent un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide alpha cétonique. Deux enzymes sont importants : l'Alanine aminotransferase (ALAT) et l'Aspartate aminotransferase (ASAT). Ces deux enzymes catalysent le transfert de NH_2 de l'Aspartate pour ASAT et de l'alanine pour ALAT sur l'α-cétoglutarate selon les réactions suivantes :



*MDH = Malate déshydrogénase

** LDH= Lactate déshydrogénase

Les transaminases sont considérées comme des bons marqueurs pour l'exploration biochimique des fonctions hépatiques. Les valeurs normales pour l'ALAT et l'ASAT sont entre 5 et 45 UI/L. Cependant, l' ALAT et l' ASAT peuvent être augmenter en cas d'infarctus du myocarde, d'hépatite aigue et chronique ou d'une cirrhose.

b- Gamma glutamyl transférase (γGT)

C'est une enzyme qui catalyse le transfert d'un groupement γ glutamyl d'un peptide ou d'une autre substance à un acide aminé ou un autre peptide. On la trouve dans le foie, le rein, le pancréas et la prostate.

Le dosage de γGT est intéressant pour évaluer certaines pathologies hépatiques et biliaires. Les valeurs normales sont entre 5 et 35 UI/L. L'augmentation de γGT reflète un mauvais fonctionnement des voies biliaires et du foie. Elle peut être augmentée au cours de l'infarctus de myocarde, de l'insuffisance cardiaque ou de la cholestase.

c-La bilirubine

La bilirubine est un pigment présent dans la bile, c'est le produit de dégradation de la biliverdine qui est produite à partir de l'hémoglobine à la suite de la destruction des globules rouges, elle passe dans le foie qui la conjugue pour devenir bilirubine, conjugué hydrosoluble non toxique éliminé par la bile. Le dosage de la bilirubine totale sert à confirmer une jaunisse, mais en général sert à dépister les maladies hépatiques.

Les valeurs normales de la bilirubine totale doivent être inférieures à 10 mg/l.

Une augmentation de la concentration de la bilirubine totale reflète un mauvais fonctionnement du foie et de la vésicule biliaire ou une destruction accrue des globules rouges dans le sang à cause des maladies hépatiques par exemple.

d-la phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline est une enzyme capable de libérer de l'acide phosphorique à partir des esters, elle est normalement présente dans le sang, et elle est en partie éliminée par la bile. La présence de cette enzyme est indispensable à la minéralisation de l'os. Dans les cellules osseuses ayant pour but la fabrication du tissu osseux (ostéoblastes) ainsi que celle du cartilage (chondroblastes). Les dosages de la phosphatase alcaline (avec ceux du calcium et de potassium) forment l'arsenal des tests exécutés en routine dans une exploration clinique du métabolisme phosphocalcique

Les valeurs normales doivent être inférieures à 6UI/L. Ces valeurs augmentent au cours du rachitisme, de l'ostéomalacie, du cancer de la prostate ou de l'hyperparathyroïdie.

3-3-1- 5- Le fer sérique

Le fer est un élément essentiel au développement des êtres humains, le corps humain adulte contient 4 à 5 g de fer. Il est réparti dans l'organisme sous plusieurs formes :

- Forme héminique (hémoglobine).
- Forme non héminique (forme de réserve : ferritine, hémosidérine).
- Forme circulante (fer sérique transporté par la transferrine ou sidérophiline).
- Autres formes (fer des cytochromes et des divers enzymes).

Le dosage de fer sérique a pour but de diagnostiquer les états de carence en fer et celui des surcharges en fer. Les valeurs normales sont situées entre 0,6 à 1,6 mg/l. Une diminution du taux sanguin de fer ou hyposidérémie peut être due à un apport alimentaire insuffisant, besoins accrus au cours de la grossesse, malabsorption intestinale. L'hyposidérémie peut être également observée en cas d'anémie chronique, au cours de certaines infections, en cas de cancers ou hémopathies, ainsi qu'en cas d'insuffisance rénale chronique.

Une augmentation du taux sanguin de fer (ou hypersidérémie) s'observe au cours de certaines formes d'anémies (anémies "hémolytiques", thalassémies). Elle traduit une surcharge en fer, lorsque l'absorption intestinale est supérieure aux besoins ou en cas de destruction des cellules du foie au cours d'une hépatite.

3-3-1-6- La protéine C réactive (la CRP)

La CRP est une petite protéine fabriquée par le foie. Elle reflète une inflammation aigue c'est le marqueur le plus utilisé et le plus sensible et le plus fiable d'une inflammation. Son dosage dans le sang est donc utilisé pour mettre en évidence une inflammation. Les valeurs normales sont entre 0 et 6 mg/l. Mais, la CRP augmente au cours d'une inflammation sévère et elle décroît rapidement à l'arrêt de ce processus.

Partie II- Matériel et Méthode

1- Matériel biologique

Les dosages réalisés pendant notre stage se faisaient sur du sang veineux prélevé en absence ou en présence d'un anticoagulant spécifique selon le type de dosage.

2- Méthodes

2- 1- L'hématologie

2-1-1- L'hémogramme

L'hémogramme (Numération Formule Sanguine) est effectué à l'aide de l'automate sysmex Kx-21N. L'automate mesure les éléments figurés du sang à savoir les hématies, les globules blancs et les plaquettes. Des paramètres liés à ces éléments sont également mesurés. Il s'agit de :

- taux d'hémoglobine,
- hématocrite
- volume globulaire moyen (VGM)
- teneur corpusculaire en hémoglobine (TCMH)
- concentration corpusculaire en hémoglobine (CCMH).

Les réticulocytes qui sont les précurseurs anucléés des hématies sont également comptés par l'automate de numération.

2-1-2- Réalisation du 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. Le prélèvement est effectué sur du sang veineux recueilli sur EDTA (éthylène diamine tétra acétique). Le sang est par la suite homogénéisé. La figure 1 montre les étapes successives de la réalisation du frottis sanguin. Le tableau 4 montre la coloration du frottis par Giemsa et May Grunwald.

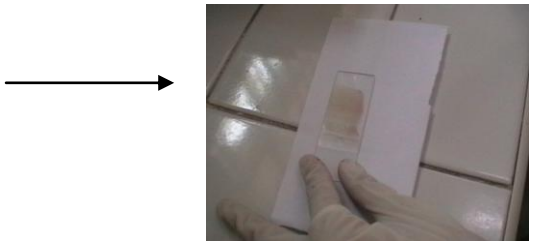


1 2 3

Dépôt d'une goutte de sang

Couverture de la goutte avec une lame

Etalement de la goutte

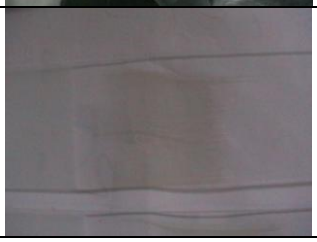


4

Réalisation du frottis

Figure 1. Réalisation du frottis sanguin

Tableau 4. Coloration du frottis sanguin

Etape	Images	Description
Etape 1		Fixation du frottis sanguin avec le méthanol (5 min)
Etape 2		Rinçage du frottis avec de l'eau
Etape 3		Coloration du frottis par le May Grünewald (de 3 à 5 minutes)
Etape 4		Rinçage avec de l'eau
Etape 5		Coloration par Giemsa dilué (1/10) pendant 2 à 3 minutes
Etape 6		Rinçage avec de l'eau
Etape 7		Séchage du frottis

2- 1- 3-Détermination des Groupes sanguins

Le principe de la méthode consiste à détecter des antigènes A, B et Rhésus dans le sang par les Anticorps anti A, anti B et Rh.

Le prélèvement est effectué sur du sang veineux recueilli sur un anticoagulant.

a- 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 2ème goutte, Anti AB à la 3ème goutte et une goutte de sérum anti D à la 4ème 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. Le tableau 5 montre les différents types de résultats qu'on peut avoir.



1 Dépôt des gouttes de sang dans la plaque

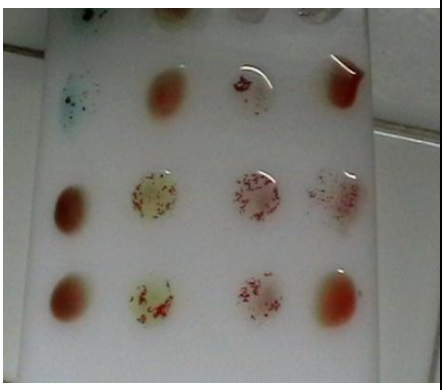
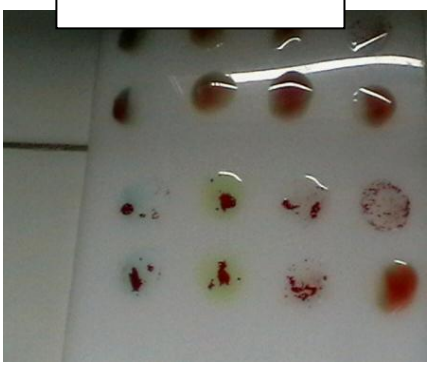
2 Ajout des anticorps sur le sang

3 Mélange des gouttes



4 Faire des mouvements de rotation

Figure 2. Etapes de la détermination du groupe sanguin

Tableau 5. Méthode de détermination des groupes sanguins et des rhésus		
Le groupe A	A^+ : Si la 1ère, la 3ème et la 4ème goutte donnent des agglutinations, tandis que la goutte restante ne donne pas des agglutinations. A^- : Si la 1ère, la 3ème goutte donnent des agglutinations, la 2ème et la 4ème goutte ne donnent pas des agglutinations	
Le groupe B	B^+ : si la 2ème, la 3ème et la 4ème goutte donnent des agglutinations, tandis que la 1ère goutte ne donne pas des agglutinations B^- : si la 2ème et la 3ème goutte donnent des agglutinations, alors que les deux restantes ne donnent pas des agglutinations	
Le groupe O	O^+ : si la 4ème goutte donne des agglutinations, alors que les trois premières gouttes ne donnent pas des agglutinations. O^- : si les quatre gouttes ne donnent pas des agglutinations	Agglutination 
Le groupe AB	AB^+ : si les quatre gouttes donnent des agglutinations. AB^- : si les trois premières gouttes donnent des agglutinations, alors que la 4ème goutte ne donne pas des agglutinations	

2- 1- 4- Détermination des paramètres de la coagulation

Il s'agit de déterminer ici le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline caolin (TCK).

2-1-4-1- Le taux de prothrombine

- Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse, il s'est fait sur citrate trisodique (un volume d'anticoagulant pour neuf volumes de sang).
- On centrifuge le flacon pendant 10 minutes à 2500 tours/minute pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.
- On met 50 microlitres du plasma dans une cuvette et on incube pendant une minute. On ajoute 100 microlitres du réactif (la thromboplastine) 10 secondes avant la fin de l'incubation.
- On exprime le TP en pourcentage par rapport à un plasma normal. Ce temps est donné par l'automate de mesure.

2-1- 4-2 **- Le temps de céphaline kaolin**

Le temps de céphaline kaolin mesure le temps de recalcification d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de céphaline.

Après centrifugation, on met dans une cuvette 50 microlitres de plasma on lui ajoute 50 microlitres de réactif (bio TCK) et on incube pendant 3 minutes.On ajoute 50 microlitres de $CaCl_2$ 10 secondes avant la fin de l'incubation.

2- 2- La sérologie

Le diagnostic sérologique repose sur la mise en évidence des anticorps induits par l'infection et retrouvés dans le sérum.

Dans notre cas, on va mettre on évidence la maladie de la syphilis et les antistreptolysines par les tests suivants :

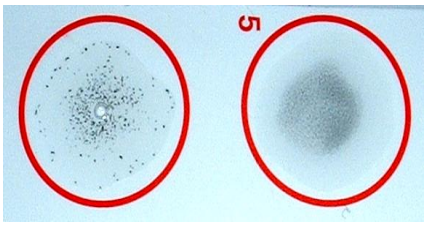
- Venereal Disease Research Laboratory (VDRL),
- Treponema Pallidum Hemagglutination Assay (TPHA),
- Antistreptolysines O (ASLO)

2-2- 1-Le VDRL

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse, et il se fait sur un flacon sec sans anticoagulant.

a- Réaction qualitative

- 50µL de sérum sont distribués dans chaque cercle de la plaque en verre.
- 16 µL d'Antigène VDRL sont ajoutés.
- La plaque est placée sur l'agitateur de Kline pendant 8 minutes.
- Les résultats sont enfin déterminés.



Agglutination : + Pas d'agglutination : -

Lorsqu'il y a agglutination, la réaction qualitative est jugée positive et on passe à la réaction quantitative.

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, on réalise la même réaction avec une série de dilution du sérum positif au (1/2, 1/4, 1/8, 1/16,1/32…) avec de l'eau physiologique.

Tableau 6. Procédure de la réaction quantitative du VDRL

Cercles	1	2	3	4
Eau physiologique	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16
Sérum à analyser en µL	50 µL de la réaction positive	50 µL à partir de la dilution 1/2	50 µL à partir de la dilution 1/4	50 µL à partir de la dilution 1/8
Agitation pendant 8 minutes				
Lecture (Agglutination + ou -)				

Le titre d'anticorps est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction négative nette.

2-2-2- Le TPHA

Il consiste à observer l'hemagglutination de globules rouges qui ont absorbé des antigènes du *Treponema pallidum*.

Le dépistage consiste à tester le sérum à la dilution de 1/80. Des dilutions sont effectuées pour le titre dans le cas du dépistage positif.

a- Réaction qualitative

- 190 µL du réactif TPHA Dilué sont distribués dans le premier puits de la plaque.
- 10 µL de sérum est ajouté sur le réactif.
- 75µL de TPHA test cells sont mis dans le 2ème puit, et le même volume de TPHA contrôle cells dans le 3ème puit.
- 25µL sont prises à partir du premier puit et mises dans le 2ème puit. La même quantité est mise également dans le 3ème puit
- La plaque est couverte pendant 40 minutes.
- La lecture est effectuée à l'œil nu. La lecture consiste à détecter la présence ou l'absence d'un voile.

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive (1/80) on réalise une série de dilutions du sérum (1/2, 1/4, 1/8…..) et on détermine le titre d'anticorps.

2-2-3- ASLO

Cette analyse recherche la présence dans le sang de certains anticorps développés spécifiquement au cours d'une infection à streptocoques (angine, scarlatine, rhumatisme articulaire aigu).

a- Réaction qualitative

- Une goutte de réactif des ASLO est mise dans le latex.
- 50 µL de sérum sont ajoutés.
- Le latex est placé sur l'agitateur de Kline.
- La lecture est effectuée à l »œil nu ;

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, la même réaction sera réalisée avec une série de dilution du sérum au (1/2, 1/4, 1/8, 1/16,1/32…) avec de l'eau physiologique.

Le titre d'anticorps est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction négative nette.

2-3- La biochimie

2-3-1- Dosage par automate

L'automate utilisé en biochimie est nommé <<Sysmex kx-21N >>, il contient deux plateaux l'un pour les réactifs et l'autre pour les échantillons. Après le prélèvement sanguin, les flacons sont centrifugés afin de séparer le sérum ou le plasma et les globules sanguins, ensuite on les dépose dans les plateaux des échantillons.

Le principe de cet automate est la colorimétrie. La coloration est mesurée par spectrophotométrie qui donne une densité optique. Cette densité optique est calculée par une formule par rapport à un étalon.

Les résultats sont affichés sur un ordinateur attaché à l'appareil et imprimés sur des papiers pour délivrer aux clients.

2-3-2- Dosage manuel en cas d'urgence

2-3-2-1- La glycémie

- On a pipeté 10 µL de l'échantillon, 10 µL de l'étalon (composé de l'urée, de glucose et de la créatinine) et 1 ml du réactif du glucose
- On a agité et on a incubé dans l'étuve à 37° pendant 10 minutes.
- On a mélangé et on a lu la concentration de glucose sur l'écran du spectrophotomètre à 450 nm.

2-3-2-1- L'urée

- On a préparé trois flacons : le blanc, l'étalon et l'échantillon. Dans le premier on a mis 1ml de réactif A de l'urée (salicylate de sodium, nitroprussiate de sodium et un tampon phosphate), dans le 2ème on a mis 1ml de réactif A plus 10 µL d'étalon (composé de l'urée, de glucose et de la créatinine), dans le dernier on a mis 1 ml de réactif A plus 10 µL de l'échantillon à analyser.
- Les flacons sont incubés dans l'étuve pendant 10 min
- Après incubation, on a ajouté 1ml du 2ème réactif B (hypochlorite de sodium et hydroxiade de sodium) dans les trois flacons, et on a incubé une 2ème fois pendant 10 min.
- Après la stabilisation d'une coloration verte, on a mélangé et on a lu la concentration à 450nm par le spectrophotomètre.

Partie III- Résultat et Discussion

1- Hématologie

1-1- Résultat d'une NFS

Tableau 9. Numération d'un sujet sous chimiothérapie. Comparaison avec les valeurs normales.

Paramètre	Valeur	Référence
GB (/ mm^3)	600	4000 à 10000
GR (million / mm^3)	2,13	4,2 à 5,7
HB (g / 100ml)	6,0	14 à 17
HT (%)	17,8	40 à 52
VGM / μ^3	83,6	80 à 100
TCMH pg	28,2	28 à 32
CCMH %	33,7	30 à 35
PLT (/ mm^3)	25	150 à 400

Les résultats du tableau 9 montrent que chez ce sujet les trois lignées du sang (les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes) sont présentes à des valeurs très inférieures à la valeur normale. Ce sujet présente donc une anémie, une thrombopénie et une leucopénie. Il s'agit d'une pancytopénie.

Le patient ici est sous chimiothérapie, or la chimiothérapie est fondée sur l'emploi des produits toxiques qui agissent sur les cellules au moment de la division cellulaire. Elle agit sur les cellules cancéreuses, mais aussi sur les cellules normales en prolifération rapide. Parmi ces cellules se trouvent les cellules sanguines qui se renouvellent rapidement. Il est donc normal qu'un traitement chimiothérapique s'accompagne d'une diminution du taux des cellules sanguines dans le sang.

Les globules blancs protégent l'organisme contre les infections. Leur diminution après une chimiothérapie expose le malade aux infections. Cependant, le nombre de globules blancs peut remonter 3 semaines après une séance de chimiothérapie. Cela dépend de l'alimentation et des conditions de vie. Toutefois, si la quantité des globules blancs n'est pas remontée, la prise des facteurs de croissance pour corriger cet abaissement et limiter le risque d'infection est indispensable afin de stimuler la moelle osseuse à produire ces cellules.

L'anémie se caractérise par une diminution de nombres des globules rouges dans le sang. Cette diminution signifie aussi une diminution d'hémoglobine qui est un

constituant essentiel des globules rouges responsable du transport de l'O_2 vers les tissus du corps. La diminution de l'hémoglobine à pour conséquence de réduire la quantité d'O_2 distribuée aux tissus. Le manque d'O_2 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 à 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, certains paramètres tels que le VGM, le TCMH ou le CCMH sont présents avec des taux normaux. En effet, le TCMH ou le CCMH n'ont pas d'intérêt diagnostic, dans certains cas leurs taux bas peuvent confirmer une hypochromie (manque de fer).

1-2- Résultats d'un frottis sanguin

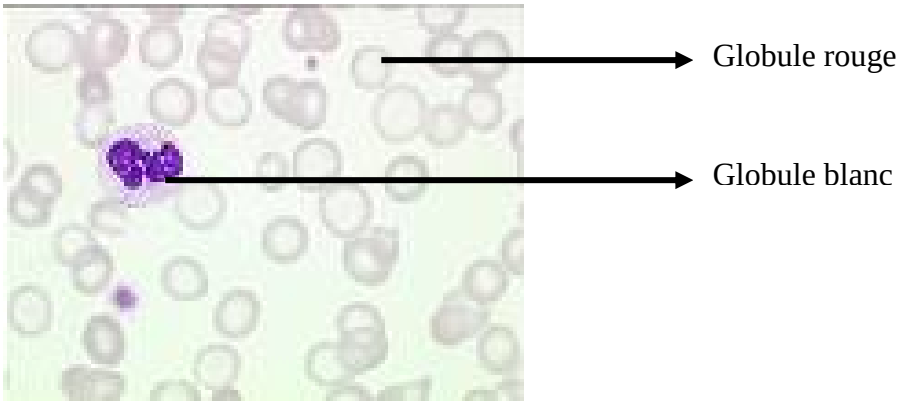


Figure 3. Frottis sanguin d'un individu atteint d'une Anémie microcytaire hypochrome

La figure 3 montre que les globules rouges présentent une taille inférieure à la normale. 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 ce sang a donné des hématies hypochromes. Cette anémie microcytaire hypochrome peut être due à une carence en fer (hyposidérémie). Le fer est, en effet, un

constituant de l'hémoglobine. Une hyposidérémie peut être à l'origine d'une diminution du taux d'hémoglobine dans le sang et par conséquent d'une anémie hypochrome.

1-3- Résultat d'un TP et TCK

Tableau 11 : Résultat d'une femme en ceinte sous AVK

Paramètre	Valeur	Référence
TP	35%	70 et 100%
TCK	37 secondes	30 et 40 s

D'après le tableau 11 on remarque que le TP est allongé alors que le TCK est normal, cela est du à l'action des AVK. Le traitement anti-vitamines K (AVK) a pour but de ralentir la coagulation du sang de façon à éviter la formation intempestive de caillots à l'intérieur des vaisseaux. Le risque principal de ce traitement est, évidemment, la survenue d'hémorragies.

La vitamine K intervient dans la synthèse, par le foie, de 4 molécules de la coagulation, les facteurs II, VII, IX et X, et de 2 inhibiteurs de la coagulation, la protéine C et la protéine S. La vitamine K est un cofacteur de la carboxylase ; la gamma-carboxylation permet la fixation des facteurs de coagulation sur les phospholipides des membranes cellulaires.

2- Exemple de résultat sérologique : Test TPHA

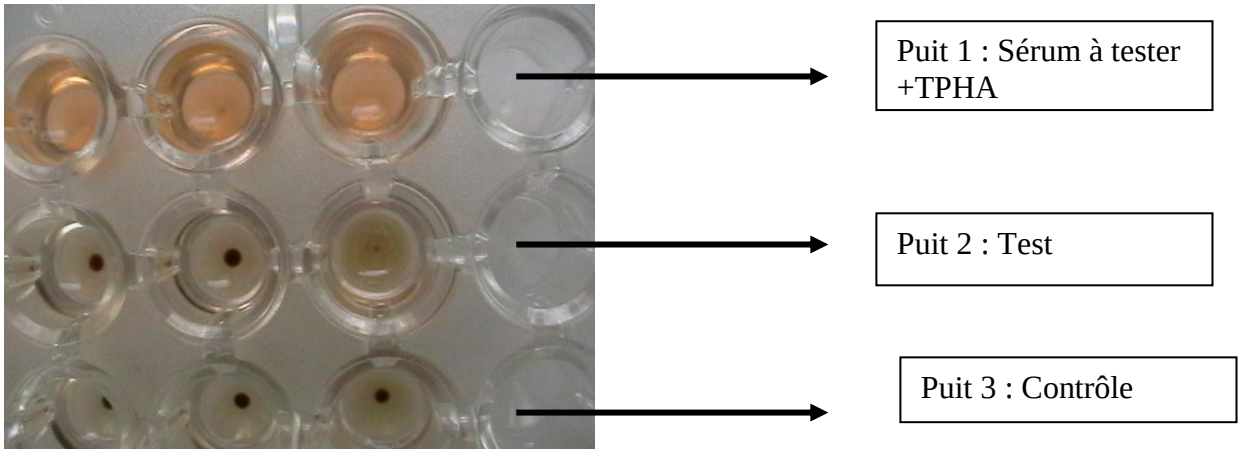


Figure 4. Résultats de TPHA des femmes enceintes

La figure 4 montre que pour le sérum 1 et 2 il y a un anneau très serré à bord net (absence de voile). Le TPHA est donc négatif. Tandis que pour le sérum 3 dans le 2ème puit il y a un voile couvrant le 1/3 du puit. Le TPHA est donc positif. Ce résultat positif indiquant la forte probabilité d'avoir la syphilis a été confirmé par le test VDRL qui s'est révélé positif. Cette femme enceinte a un risque de transmission de la syphilis pour le fœtus. La recherche des IgM chez cette femme, permet de faire la distinction entre une syphilis ancienne guérie (taux d'anticorps résiduels) et une syphilis évolutive. Un suivi sérologique d'abord de la mère puis de l'enfant est indispensable.

3- Exemple de résultat biochimique

Tableau 12. Type de résultats biochimique

Type	Valeur	Unité	Référence	Observation
Glucose	1,90	g/l	0,7 et 1,1	haut
Urée	0,84	g/l	0,15 et 0,5	haut
Acide urique	79,90	mg/l	25 et 70	haut
Créatinine	30,14	mg/l	6 et 12	haut
Cholestérol	2,06	g/l	1,5 et 2	normal
Cholestérol HDL	0,797	g/l	0,35 et 0,6	haut
Triglycérides	1,55	g/l	0,4 et 1,5	haut
ASAT	160	U/l	5 et 40	haut
ALAT	110	U/l	5 et 45	haut
CRP	7,2	mg/l	0 et 6	haut

Le tableau 14 montre que chez ce sujet, à part le taux de cholestérol qui est normal, tous les autres paramètres dosés présentent des valeurs largement supérieures à la normale. Le taux de glucose indique que le sujet peut être diabétique. L'augmentation du taux de l'urée et de la créatinine peut témoigner d'une insuffisance rénale. L'urée et la créatinine sont, en effet, des composés filtrés et éliminés par les reins. Une détérioration de la filtration glomérulaire entraîne une augmentation de ces composés dans le sang.

Le taux d'acide urique montre qu'il y a une probabilité d'avoir la goutte. Mais, pour le confirmer on peut avoir recours à un examen microscopique d'un liquide prélevé

d’une articulation. S'il s'agit de la goutte, des cristaux d'acide urique ayant la forme d'aiguilles apparaîtront lorsque le liquide sera examiné sous une lumière *polarisante*

Le bilan lipidique montre que les triglycérides sont augmentés. On peut lier cette augmentation au diabète ou encore à la goutte que cet individu peut avoir, étant donné son taux d’acide urique supérieur à la normale.

Enfin, le taux des transaminases est augmenté par rapport à la normale, les indices qui peuvent être la cause de cette augmentation sont éventuellement soit une cirrhose, soit une hépatite aigue ou chronique.

Les transaminases étant présentes dans différents tissus de l’organisme tels que le foie, les reins, le myocarde….etc. une augmentation de ces dernières, pourrait être un signe probable d’une pathologie touchants ces tissus.

Conclusion Générale

Les analyses médicales 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 les laboratoires, il s'agit des analyses hématologiques, 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. Le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Mohammed V de Sefrou est doté de ce type d'appareils. Cependant des dosages classiques manuels sont encore appliqués à l'hôpital.

Le stage 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 très 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.

Références bibliographiques

Articles

Bablok W. (1988) - Procedure for method transformation Vol, 26, p 783 – 790.

Leisinski J, Krach J, Brit J , Vener.D et Kadzuwicz J.(1974) - Diagnostic Procedures in the rheumatic Disesse Vol,50, p 334-340.

Young H et Int J. (1992) – New diagnostic direction of syphilis, Vol, 6, p. 391 – 413.

Manuel du ministère de la santé

Les Procédures opératoires standardisés de biologie médicale, 1ère édition 2001.

Sites Web

http : //www.analyses médicales- doctissimo
http:// www.vulgaris médicales- strept/classification streptocoques.

Dédicaces

A mes parents qui m'ont aidés moralement et matériellement durant mes études, et pour :

- *Leur amour*
- *Leur affection*
- *Leur précieux conseil*

Aucune phrase ne saurait exprimer mon grand et profond amour.

*A **ma sœur et mon frère** pour leur amour véritable et sincère.*

*A **mes formateurs** qui ont veillé sur ma formation, en me*

Transmettent leurs connaissances.

A ***mes amis****, en souvenir du temps que nous passions ensemble.*

A ***toutes les personnes*** *qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Et à toi aussi ***lecteur, lectrice.****…*

Remerciements

*A*u terme de ce travail j'ai le plaisir d'exprimer mes sincères remerciements et ma haute gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidées à réaliser ce travail et envers qui je me sentirai reconnaissante durant toute ma vie

*J*e tiens tout d'abord à remercier mes professeurs **RACHID BENCHEIKH et TAZI ABDELALI** que je respecte beaucoup.

*U*n grand merci à mon encadrant Dr **MRIOUCH MUSTAPHA** qui m'a accueilli dans son laboratoire, et qui m'a formé et accompagné tout au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de patience et de pédagogie.

*M*es remerciements sincères et dévoués à Madame **MIKOU KARIMA** qui a accepté de m'encadrer et aussi de faire un suivi avec moi tout au long du stage, il m'a guidé et soutenu, je la remercie vivement pour tout…

J'aimerai exprimer mes remerciements anticipés aussi à Madame **GUISSI SANAE** d'avoir pris la responsabilité d'examiner mon travail.

*J*e tiens également à remercier toutes et tous les assistants médicaux et les techniciens du laboratoire : **Mr.Bouchta, Mr.Youssef, Mr.Jawad, Mr.Lhabib, Mr.Hamid, Mr.Mustapha, Mr.Mohamed, Mme Rahma et Mme Fatal** qui m'ont beaucoup appris au cours de ce stage et qui ont la gentillesse d'en faire un moment très profitable.

*E*n fin je remercie toute personne ayant contribué au bon déroulement de ce stage dans les meilleures conditions.

Merci à tous…

Sommaire

Objectif de stage	1
1- Présentation de l'hôpital Mohamed V	2
2- Présentation du laboratoire	2
Partie I : Données bibliographique	4
1- Définition des analyses médicales	4
2- Les étapes des analyses médicales	4
2-1- Stade pré analytique	4
2-2- Stade analytique	4
2-3- Stade post analytique	4
3- Les différents types des analyses médicales	5
3-1- Hématologie	5
3-1-1- Définition	5
3-1-2- Les cellules circulantes dans le sang	5
3-1-3- L'hémogramme	5
3-1-3-1- L'hématocrite	7
3-1-3-2- L'hémoglobine	7
3-1-3-3- Le volume globulaire moyen (VGM)	7
3-1-3-4- La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)	8
3-1-3-5- La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)	8
3-1-4- Les groupes sanguins	8
3-1-4-1- Détermination du groupe sanguin	9
3-1-4-2- Détermination du système rhésus	9
3-1-5- La vitesse de sédimentation	9
3-1-6- La coagulation	9
3-1-6-1- Définition	9

3-1-6-2- Les paramètres de la coagulation	10
3-1-6-2-1- Le taux de prothrombine ou temps de quick	10
3-1-6-2-2- Le temps de céphaline kaolin	10
3-2- La sérologie	10
3-2-1- Définition	10
3-2-2- La syphilis	11
3-2-3- Les streptocoques (les antistreptolysines O)	11
3-3- Analyse biochimique	12
3-3-1- Les paramètres de la biochimie	12
3-3-1-1- Les ions et les électrolytes sanguins	12
3-3-1-2- Le bilan lipidique	13
3-3-1-3- La glycémie	14
3-3-1-4- Analyse enzymologique	15
3-3-1-5- Le fer sérique	16
3-3-1-6- La protéine C réactive (CRP)	17
Partie II : Matériel et méthode	18
1- Matériel biologique	18
2- Méthodes	18
2-1- L'hématologie	18
2-1-1- L'hémogramme	18
2-1-2- Réalisation du frottis sanguin	18
2-1-3- Détermination des groupes sanguins	21
2-1-4- Détermination des paramètres de la coagulation	23
2-1-4-1- Le taux de prothrombines	23
2-1-4-2- Le temps de céphaline kaolin	23
2-2- La sérologie	23
2-2-1- Le VDRL	23
2-2-2- Le TPHA	25
2-2-3- ASLO	25
2-3- La biochimie	26
2-3-1- Dosage par automate	26
2-3-2- Dosage manuelle en cas d'urgence	26
2-3-2-1- La glycémie	26
2-3-2-2- L'urée	26
Partie III : Résultats et discussions	27
1- Hématologie	27
1-1- Résultat d'une NFS	27
1-2- Résultat d'un frottis sanguin	28
1-3- Résultat d'un TP et TCK	29
2- Exemple de résultat sérologique : Test TPHA	29
3- Exemple de résultat biochimique	30
Partie IV : Conclusion générale	32
Partie V : Références bibliographiques	33

Objectif de stage

La formation des étudiants de Licence à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès se termine par un stage de fin d'études dans un laboratoire de recherche. Ce stage, de deux mois, vise à préparer l'étudiant au monde du travail et à concrétiser les connaissances théoriques reçues tout au long de son cursus universitaire.

Ce stage, réalisé au laboratoire d'Analyses médicales au centre hospitalier provincial de Sefrou, a consisté à prendre connaissance des méthodes d'analyses utilisées dans le laboratoire à savoir les analyses biochimiques, microbiologiques, hématologiques ou encore sérologiques. On s'est également intéressé à l'intérêt clinique des paramètres dosés ainsi qu'à l'équipement nécessaire pour la réalisation de ces analyses.

Présentation de la structure d'accueil

Notre stage a été effectué au laboratoire d'analyses médicales à l'hôpital Mohamed V de Sefrou

1- Présentation de l'hôpital Mohamed V

L'hôpital Mohamed V a été construit en 1971. Il a été classé à l'époque en tant qu'hôpital de zone. Depuis la création de la province administrative à Sefrou en1992, il joue le rôle d'un hôpital provincial, et depuis 1998, l'hôpital est considéré comme un centre hospitalier provincial. En dehors de la création du service des urgences et du laboratoire d'analyse médicale, son plateau technique reste sans changements jusqu'en 1993.Cependant, plusieurs projets ont été réalisés ces deux dernières années, à savoir l'extension de la maternité après construction d'un bloc dans le cadre de la coopération maroco-japonaise (JICA), la construction d'un centre d'hémodialyse et d'un broyeur. Ces projets, d'une grande importance pour la prise en charge de la population cible et la protection de l'environnement par le traitement des déchets hospitaliers, sont actuellement fonctionnels. Le projet de l'antenne de sang reste jusqu'au nos jours non fonctionnel par manque d'effectif.

Le CHP (l'hôpital Med V) assure les disciplines suivantes :

-Médecine	- Chirurgie
-Traumatologie	- Pédiatrie
-Gynécologie obstétrique	- Tabacologie
- Anesthésie	- Médecine de travail
- Cardiologie	- Pneumo-phtisiologie

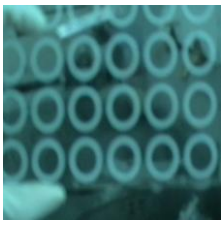
- Hémodialyse
- Rhumatologie
- Gastro-entérologie
- Médecine de sport

2- Présentation du laboratoire

Le laboratoire d'analyses médicales où j'ai effectué mon stage est sous la direction d'un médecin biologiste. Le laboratoire est doté d'appareils classiques (Centrifugeuses, étuves, agitateurs, réfrigérateur pour la conservation des réactifs) et des automates dans une salle technique pour la réalisation des analyses. Ces automates permettent de réaliser un certain nombre d'analyses médicales en un temps limité. L'augmentation des demandes d'analyses biologiques a exigé, en effet, l'apparition d'automates de plus en plus rapides et fiables au sein des laboratoires d'analyses médicales. Le tableau 1 ci- dessous présente les différents automates utilisés dans le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Mohamed V de Sefrou.

Tableau 1. Quelques appareils utilisés au laboratoire

Appareil	**Description**
 Sysmex kx-21N  Agitateur	Sysmex kx-21N est un automate qui permet la réalisation de la numération formule sanguine (NFS° L'agitateur homogénéise les flacons de la NFS.
 BisystemsA15+  Biosystems BTS-310 (Sspectrophotomètre)	Ces automates réalisent des réactions chimiques, enzymatiques ou immunologiques dans le but de doser un composé chimique ou sérologique dans un liquide biologique de l'organisme (sang, urine, liquide d'épanchement ou de ponction). Ils permettent aussi le dosage de la densité optique dans les différents éléments contenus dans les différents liquides biologiques
	Cet automate permet de réaliser les temps de coagulation pour la surveillance des traitements anticoagulants, l'évaluation des fonctions hépatiques, le bilan de l'hémostase.

 Sysmex Ca-50	
 Plaque  Latex	Ces plaques d'agglutination permettent le diagnostic de certaines maladies comme la syphilis, etc.

Partie 1.
Données bibliographiques

2- 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 concoure 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.

2- les étapes des analyses médicales

2-1- Stade pré analytique

La phase pré analytique englobe la totalité des actes réalisés entre la prescription de l'analyse par le médecin el la réalisation de celle-ci par le laboratoire. Elle consiste en une préparation du patient qui doit être mis au repos pour le prélèvement, le patient peut être à jeun ou non selon le type d'analyse. Le choix du moment du prélèvement est également d'une grande importance pour le diagnostic. Les prélèvements sont réalisés d'habitude entre 8h 30 min et 10h 30 min du matin, généralement 12 heures après le dernier repas et avant les soins ou la prise de médicaments.

Certaines précautions spécifiques à chaque analyse doivent être prises : flacon citraté pour bilan d'hémostase, EDTA pour la NFS, fluorure de lithium pour la biochimie, etc.

2-2- Stade analytique

Selon le laboratoire et le domaine de science, la phase analytique utilise de plus en plus souvent des automates très sophistiqués qui permettent d'améliorer la rapidité et la reproductibilité des résultats.

2-3- Stade post analytique

C'est le stade de la prescription des résultats pour les rendre au patient, le biologiste responsable du labo doit veiller à cette étape là, à l'étude des résultats, à leur cohérence, et à leur validation puis à leur retour au médecin avec plus au moins des remarques en cas de nécessité.

3- les différents types d'analyses médicales

On peut classer les analyses médicales réalisées au laboratoire en trois catégories principales : Hématologie (cytologie, hémostase, immunohématologie), Biochimie et Immunologie.

3-1- Hématologie

3-1-1- Définition

L'hématologie étudie la physiologie et la pathologie du sang. Les analyses hématologiques sont pratiquées sur le sang pour permettre le diagnostic ou le suivi de certaines maladies. Le sang est composé d'un liquide, le plasma, dans lequel flottent des cellules (éléments figurés) et un grand nombre de substances (protéines, hormones, vitamines, etc.…).

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**.**

3-1-2- les cellules circulantes dans le sang

Il y en a trois types : les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes**.**

3-1-3-L'hemogramme

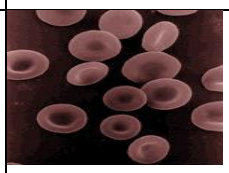
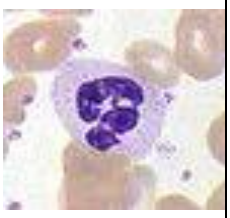
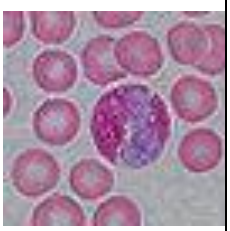
L'hémogramme, numération formule sanguine (NFS), examen hématologique complet ou hémato complet est l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des

éléments figurés du sang : globules rouges, globules blancs et plaquettes. Elle est faite au moyen d'une simple prise de sang, le prélèvement se réalise sur un tube contenant une solution anticoagulante (EDTA), puis l'analyse est effectuée par un automate qui mesure le nombre d'érythrocytes, de globules blancs et de plaquettes.

Des paramètres liés à ces éléments sont également mesurés pour certains (taux d'hémoglobine, volume globulaire moyen = VGM) ou calculés (hématocrite, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine = TCMH, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine = CCMH). D'autres indices (Indice de distribution des globules rouges ou des plaquettes) peuvent également être calculés par les automates de numération.

Cet examen est essentiel pour apprécier un dysfonctionnement de la moëlle osseuse ou des perturbations dites "périphériques" (anémies, augmentation des globules blancs en réponse à une attaque de l'organisme, problème de coagulation et consommation des plaquettes…). Il est associé généralement à une "Formule sanguine", qui est la partie qualitative de l'hémogramme.

Tableau 2. Les éléments figurés du sang. Aspect et quelques caractéristiques

Type		Aspect	Description
Globules rouges			Cellules dépourvues de noyau, dont le cytoplasme est riche en hémoglobine et dépourvu d'organites. Ces cellules assurent le transport des gaz respiratoires (l'O_2 et le CO_2)
Globules blancs	**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 fine.
	Eosinophiles		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.

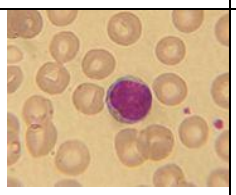
	Basophiles		Responsables des réponses allergiques et inflammatoires en libérant de l'histamine, ils sont caractérisés par de grosses granulations basophiles violettes.
	Lymphocytes		Deuxième cellule la plus importante après le neutrophile, son augmentation est le plus souvent signe d'une infection en particulier une infection virale.
	Monocytes		Ce sont les plus grandes cellules circulantes dans le sang, possèdent un noyau encoché, un cytoplasme gris-bleu et contient quelques granulations azurophiles.
Plaquettes			Fragments dépourvus de noyau. leur rôle principal est la coagulation du sang.

Tableau 3. Hémogramme. Valeurs normales

	3 à 10 ans	Femme	Homme
Hématies (millions /mm^3)	3.5- 5.0	4.0 - 5.3	4.2 - 5.7
Hémoglobine (g /100 ml)	12.0 - 14.5	12.5 - 15.5	14.0 - 17.0
Hématocrite (%)	36 – 45	37 - 46	40 - 52
VGM (µ^3)	74 – 91	80 - 95	80 - 95
TCMH (pg)	24 – 30	28 - 32	28 - 32
CCMH (%)	28 – 33	30 - 35	30 - 35
Leucocytes (/mm^3)	4500 - 13000	4000 - 10000	4000 - 10000
Plaquettes (/mm^3)	150 – 400	150 - 400	150 - 400

3-1-3-1- 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.

3-1- 3-2- 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.

3-1-3-3- Le volume globulaire moyen (VGM)

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 :

VGM = Hématocrite (%) / Nombre d'hématies (million/mm^3)

Chez l'adulte le VGM normal varie entre 80 à 100 µm^3. Lorsque le VGM est diminué, les globules rouges sont diminués on parle de microcytose, et lorsqu'il est augmenté, les globules rouges sont augmentés on parle d'une macrocytose. Il possible de classer les anémies en anémies microcytose ou macrocytose.

3-1-3-4 - La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

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

$$\text{TCMH (pg)} = \frac{\text{Hémoglobine (g/100ml)}}{\text{Nombre des hématies (million/mm}^3\text{)}}$$

La TCMH est considérée comme l'un des meilleurs indices d'un déficit de synthèse de l'hémoglobine. Ces variations apparaissent plutôt que celle de la CCMH.

3-1-3-5-La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

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 :

CCMH (%) = Hémoglobine (g/100ml) / Hématocrite (%)

Si la CCMH < 32% : une anémie hypochrome

Si 32% < CCMH<36% : une anémie normochrome

La CCMH ne peut pas dépasser 36%, donc il n'y a pas d'hyperchromie, car ce pourcentage correspond à une saturation du globule rouge en hémoglobine, au-delà de ce chiffre il y a une cristallisation avec précipitation incompatible avec le bon fonctionnement de l'hématie.

3- 1-4- Les groupes sanguins

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substances antigéniques héritées à la surface des globules rouges (hématies). Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin. Certains de ces antigènes sont également présents à la surface d'autres types de cellules de différents tissus.

Les divers groupes sanguins sont regroupés en systèmes, mais le plus utilisé est le système ABO.

3-1-4-1-Détermination du groupe sanguin

La technique utilisée **: le beth-vincent**

Cette méthode s'effectue avec des sérums test contenant des anticorps connus, afin de mettre en évidence la réaction Antigène - Anticorps. La présence ou l'absence d'agglutination permet de déterminer l'Antigène. Une deuxième technique **: simonin** permet d'identifier les Anticorps naturels réguliers du plasma.

3-1- 4−2− Détermination du système rhésus

La détermination du caractère rhésus ou présence de l'antigène D, fait partie intégrante de la détermination du groupe sanguin et s'effectue en même temps que le groupage ABO.

Le groupage rhésus s'effectue seulement par une épreuve globulaire, c'est-à-dire par la recherche de l'antigène à l'aide de sérums tests anti-D**.** La connaissance des groupes sanguins a permis d'établir des règles de transfusion à respecter impérativement. En effet, le non respect de ces règles risque d'entraîner la mort du malade. Ainsi, avant toute transfusion sanguine, il faut connaître le groupe sanguin du receveur et celui du donneur.

3- 1-5- La vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation est 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. Cette analyse consiste à observer la sédimentation des globules rouges du sang et à mesurer, au bout d'une heure et deux heures, la hauteur du plasma surnageant. Elle est utilisée pour le dépistage et la surveillance des processus inflammatoires et infectieux. Les valeurs normales de la vitesse de sédimentation sont de 3 à 15 mm chez l'homme, de 7 à 20 mm chez la femme et de 0 à 10 mm chez l'enfant.

3- 1-6- La coagulation

3- 1-6-1- Définition

La coagulation sanguine est un processus complexe durant lequel le sang forme des caillots solides. C'est une partie importante de l'hémostase où la paroi endommagée d'un vaisseau sanguin est couverte d'un caillot de fibrine pour arrêter l'hémorragie et aider à réparer le vaisseau endommagé.

La coagulation comporte une cascade de réactions enzymatiques impliquant les facteurs de la coagulation dont plusieurs sont des protéases comportant une sérine au niveau du site actif et sont soumises à des activations et à des inhibitions. L'étape finale est la transformation du fibrinogène soluble en filament de fibrine qui encercle dans leurs mailles les cellules circulantes.

Les facteurs de la coagulation sont désignés par des numéros allant de I à XIII. A l'exception du facteur XIII qui intervient dans la dernière étape de la coagulation, les autres facteurs interviennent dans l'ordre inverse de leur numérotation ; ainsi le facteur XII initie la coagulation et le facteur I la termine. Chaque facteur existe sous forme de précurseur inactif et sous forme activée, indiquée par la lettre a.

La coagulation met en jeu deux voies, l'une intrinsèque, l'autre extrinsèque, aboutissant à une voie finale commune.

La voie intrinsèque comporte les facteurs présents dans la circulation, et la voie extrinsèque, les facteurs tissulaires non présents normalement dans la circulation mais qui sont libérés lors d'une lésion vasculaire. Le facteur Xa est le carrefour de rencontre de la voie intrinsèque et de la voie extrinsèque.

3-1-6-2-Les paramètres de la coagulation

3- 6- 2-1- le taux de prothrombine ou temps de quick (TP) :

Le taux de prothrombine est un test de coagulation : c'est le temps de coagulation (recalcification) du plasma citraté en présence d'un extrait tissulaire, la thromboplastine.

Le résultat est exprimé en pourcentage par rapport à un témoin. Le taux normal est de 100 %.

3-1-6-2-2-Le temps de céphaline kaolin (TCK)

C'est le temps de coagulation à 37°c d'un plasma déplaqueté, citraté puis recalcifié en présence de céphaline et d'un activateur du système contact de la voie intrinsèque qui peut être le kaolin. Les valeurs normales sont comprises entre 30 et 40 secondes.

3-2- La sérologie

3-2-1- Définition

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.

La sérologie s'effectue sur un prélèvement sanguin veineux. Pour établir un diagnostic, deux prélèvements espacés de deux à quatre semaines sont souvent utiles pour montrer une ascension marquant une infection récente. Les dépistages nécessitent en général un seul prélèvement.

Généralement, la sérologie consiste à évaluer l'immunité à une maladie en mesurant la quantité d'anticorps spécifiques de celle-ci.

Il y a plusieurs types de sérologie :

Sérologie virale.

Sérologie bactérienne.

Sérologie parasitaire.

Dans notre cas on va traiter seulement la sérologie bactérienne qui teste en premier ordre la **syphilis** et les **streptocoques**.

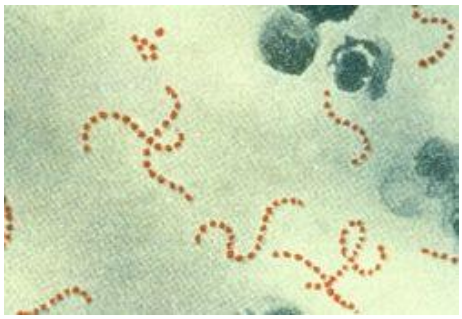
3-2-2- La syphilis

La syphilis est causée par la bactérie *Treponema pallidum*. C'est une maladie complexe qui provoque divers symptômes aux différents stades de l'infection. Si elle n'est pas soignée, elle peut entraîner des complications graves.

La syphilis est transmise par contact sexuel (vaginal, anal ou buccogénital) avec une personne infectée. La bactérie de la syphilis se transmet en particulier par contact direct avec les plaies syphilitiques qui apparaissent principalement dans la région génitale des hommes aussi bien que des femmes.

Il existe plusieurs façons de diagnostiquer la syphilis, une analyse de sang permet de la diagnostiquer par le test de TPHA (treponema pallidum d'hemagglutination assay) ou par VDRL (Venereal Disease Research Laboratory).

3-2- 3- les streptocoques (les streptolysines O)



Les streptocoques

Les streptocoques sont définis comme des cocci à Gram positif disposés, le plus souvent en chaînettes. Ils appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*.

Il y a trois types des streptocoques principaux qui sont pathogènes pour l'homme :

- Streptocoques de groupe A ou pyogènes.
- Streptocoques de types B ou agalactia.
- Streptocoques pneumonie.

Les infections par les Streptocoques donnent lieu à la production d'anticorps, en particulier de type ASLO (Anti-Streptolysine O). Le dosage de ces anticorps (ASLO) permet d'affirmer l'origine streptococcique.

3-3- 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, et,). 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.

3-3-1- Les paramètres de la biochimie

3-3-1- 1- Les ions et les électrolytes sanguins

a- L'urée

L'urée sanguine est un composé organique de formule chimique CO $(NH_2)_2$ qui provient du métabolisme des protéines et des acides aminés par transamination ou par désamination. Elle est formée dans le foie à partir de l'ammoniac. Elle passe dans la

circulation sanguine et elle est éliminée essentiellement par le rein. Les valeurs normales sont entre 0,15 et 0,5 g/l.

b- Acide urique

L'acide urique est le produit ultime du catabolisme des bases puriques, l'adénine et la guanine qui rentrent dans la structure des acides nucléiques. Son dosage est essentiellement utilisé pour le dépistage de la goutte, maladie très douloureuse qui s'accompagne d'une augmentation de l'acide urique dans le sang. Les valeurs normales sont entre 25 et 70 mg/l.

Une augmentation d'acide urique (> 70mg/l, hyperuricémie) est un facteur de risque de développer de la goutte, elle peut aussi refléter une insuffisance rénale chronique. Par contre, une diminution d'acide urique (<25mg/l, hypouricémie) peut refléter une insuffisance hépatique ou un cancer.

c- **Créatinine**

La créatinine est un produit de dégradation de la créatine. La créatine est formée dans le foie à partir de la glycine, l'arginine et de la méthionine, elle est véhiculée par le sang vers le muscle qui la transforme en créatine phosphate grâce à une enzyme la créatine phosphorylase pour constituer une réserve d'énergie. Au cours de son utilisation par le muscle, la créatine va se déshydrater spontanément en créatinine qui passe dans le plasma puis sera éliminé par le rein.

Le dosage de la créatinine aide pour le diagnostic de l'insuffisance rénale. Les valeurs normales sont entre 6 à 12 mg/dl. La créatinine est augmentée (>12mg/dl) en cas d'insuffisance rénale aigue ou chronique, et elle est diminuée (< 6mg/dl) en cas de myopathie.

e- Le phosphore et le calcium

Absorbé activement par l'intestin selon les besoins, le phosphore se fixe sur l'os et les tissus mous, il est éliminé par le rein, 1% seulement du pool de phosphore présent dans l'organisme se trouve dans le milieu extracellulaire. Le phosphore organique participe à la constitution de molécules lipidiques, glucidiques, protéiques et nucléiques il contribue à la mise en réserve et au transfert énergétique qui utilise l'ATP.

Le calcium est un cation qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme phospho-calcique, il est présent dans le tissu osseux, le cartilage, les dents et les liquides intra et extracellulaires, il intervient dans l'excitabilité neuro-musculaire, l'hémostase, etc.

Les valeurs normales du phosphore sont entre 30 à 40 mg/l. Celles du calcium sont entre 85 à 105 mg/l.

Toute augmentation du phosphore peut être causée par une hypoparathyroïdie, une insuffisance rénale, ou une intoxication à la vitamine D. Sa diminution est observée au cours de l'hyperparathyroïdie par exemple.

3 -3- 1 – 2- Le bilan lipidique

a- **Cholestérol total**

C'est une substance lipidique (de nature graisseuse) complexe présent dans les graisses d'origine animale et dans l'huile. Le cholestérol est un stéroïde indispensable pour le renouvellement et la synthèse des membranes de toutes les cellules de l'organisme. Il entre également dans la synthèse de plusieurs hormones stéroïdes. Le foie joue un rôle essentiel dans sa fabrication.

Le cholestérol peut être classé en cholestérol HDL (High Density Lipoprotein) et cholestérol LDL (Low Density Lipoprotein).

Le HDL récupère le cholestérol qui se dépose dans les vaisseaux et le ramène au foie pour qu'il soit détruit. 20 à 30% de cholestérol est associé aux HDL.

Le LDL prend le cholestérol au foie et l'emmène dans l'organisme, c'est ce cholestérol qui a tendance à se déposer dans les artères et à les obstruer. 60 à 80% de cholestérol dans le sang est associé aux LDL.

Les analyses de cholestérol sont demandées dans une démarche de prévention des maladies cardiovasculaires. Elles permettent de mieux évaluer le risque cardiovasculaire d'un individu et ainsi de décider de la mise en oeuvre d'un traitement diététique et médicamenteux visant à normaliser les taux de lipides ou graisses dans le sang.

Les valeurs normales de cholestérol total sont de 1,5 à 2 g/l. Ces valeurs peuvent être augmentées en cas d'un repas riche en graisse, de grossesse ou de diabète sucré. Elles sont diminuées en cas de jeune ou d'une malnutrition.

Les valeurs normales de HDL sont de 0,30 à 0,60 g/l. Une augmentation du HDL peut être due à une activité physique intense par exemple. La diminution de HDL est causée par le tabac, l'alcoolisme, l'obésité et l'athérosclérose.

Les valeurs normales de LDL sont de 1 à 1,5 g/l. Mais, le tabac, l'alcoolisme, l'athérosclérose peuvent provoquer une augmentation de LDL.

b- Les triglycérides

Les triglycérides font partie comme le cholestérol de la famille lipidique de l'organisme, ils constituent la principale source énergétique et sont stockés dans le tissu adipeux.

L'évaluation du taux de triglycérides est importante pour évaluer un potentiel risque athérogène avec atteinte cardiovasculaire.

Les valeurs normales sont entre 0,4 à 1,5 g/l. Le diabète sucré, le tabac, l'alcool provoquent l'augmentation des triglycérides, tandis qu'un régime pauvre en lipides, ou une malnutrition causent une diminution des triglycérides.

3- 3- 1-3- La glycémie

La glycémie désigne le taux de glucose (sucre) dans le sang. Le glucose fait partie de la famille des glucides qui est la principale source énergétique de l'organisme humain. Le muscle et le foie constituent les réserves les plus importantes de glucose sous forme de glycogène.

Le dosage de la glycémie est utilisé pour le diagnostic du diabète. Les valeurs normales sont situées entre 0,7 et 1,1g/l. Si la glycémie est supérieure à 1,1 g/l on parle d'une hyperglycémie, Si la glycémie est inférieure à 0,7 g/l on parle d' une hypoglycémie.

3- 3- 1- 4 – Analyse enzymologique

a- Les transaminases

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules, elles transportent un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide alpha cétonique. Deux enzymes sont importants : l'Alanine aminotransferase (ALAT) et l'Aspartate aminotransferase (ASAT). Ces deux enzymes catalysent le transfert de NH_2 de l'Aspartate pour ASAT et de l'alanine pour ALAT sur l'α-cétoglutarate selon les réactions suivantes :

$$\text{Aspartate} + \alpha\text{-cétoglutarate} \xrightarrow{\textbf{ASAT}} \text{Glutamate} + \text{Oxaloacétate}$$

$$\text{Oxaloacétate} + \text{NADH}, H^+ \xrightarrow{\textbf{MDH*}} \text{Malate} + NAD^+$$

$$\text{Alanine} + \alpha\text{-cétoglutarate} \xrightarrow{\textbf{ALAT}} \text{Pyruvate} + \text{Lactate}$$



*MDH = Malate déshydrogénase

** LDH= Lactate déshydrogénase

Les transaminases sont considérées comme des bons marqueurs pour l'exploration biochimique des fonctions hépatiques. Les valeurs normales pour l'ALAT et l'ASAT sont entre 5 et 45 UI/L. Cependant, l' ALAT et l' ASAT peuvent être augmentées en cas d'infarctus du myocarde, d'hépatite aigue et chronique ou d'une cirrhose.

b- Gamma glutamyl transférase (γGT)

C'est une enzyme qui catalyse le transfert d'un groupement γ glutamyl d'un peptide ou d'une autre substance à un acide aminé ou un autre peptide. On la trouve dans le foie, le rein, le pancréas et la prostate.

Le dosage de γGT est intéressant pour évaluer certaines pathologies hépatiques et biliaires. Les valeurs normales sont entre 5 et 35 UI/L. L'augmentation de γGT reflète un mauvais fonctionnement des voies biliaires et du foie. Elle peut être augmentée au cours de l'infarctus de myocarde, de l'insuffisance cardiaque ou de la cholestase.

c-La bilirubine

La bilirubine est un pigment présent dans la bile, c'est le produit de dégradation de la biliverdine qui est produite à partir de l'hémoglobine à la suite de la destruction des globules rouges, elle passe dans le foie qui la conjugue pour devenir bilirubine, conjugué hydrosoluble non toxique éliminé par la bile. Le dosage de la bilirubine totale sert à confirmer une jaunisse, mais en général sert à dépister les maladies hépatiques.

Les valeurs normales de la bilirubine totale doivent être inférieures à 10 mg/l.

Une augmentation de la concentration de la bilirubine totale reflète un mauvais fonctionnement du foie et de la vésicule biliaire ou une destruction accrue des globules rouges dans le sang à cause des maladies hépatiques par exemple.

d-la phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline est une enzyme capable de libérer de l'acide phosphorique à partir des esters, elle est normalement présente dans le sang, et elle est en partie éliminée par la bile. La présence de cette enzyme est indispensable à la minéralisation de l'os, dans les cellules osseuses ayant pour but la fabrication du tissu osseux (ostéoblastes) ainsi que celle du cartilage (chondroblastes). Les dosages de la phosphatase alcaline (avec ceux du

calcium et de potassium) forment l'arsenal des tests exécutés en routine dans une exploration clinique du métabolisme phosphocalcique

Les valeurs normales doivent être inférieures à 6UI/L. Ces valeurs augmentent au cours du rachitisme, de l'ostéomalacie, du cancer de la prostate ou de l'hyperparathyroïdie.

3-3-1- 5- Le fer sérique

Le fer est un élément essentiel au développement des êtres humains, le corps humain adulte contient 4 à 5 g de fer. Il est réparti dans l'organisme sous plusieurs formes :

- Forme héminique (hémoglobine).
- Forme non héminique (forme de réserve : ferritine, hémosidérine).
- Forme circulante (fer sérique transporté par la transferrine ou sidérophiline).
- Autres formes (fer des cytochromes et des divers enzymes).

Le dosage de fer sérique a pour but de diagnostiquer les états de carence en fer et celui des surcharges en fer. Les valeurs normales sont situées entre 0,6 à 1,6 mg/l. Une diminution du taux sanguin de fer ou hyposidérémie peut être due à un apport alimentaire insuffisant, besoins accrus au cours de la grossesse, malabsorption intestinale. L'hyposidérémie peut être également observée en cas d'anémie chronique, au cours de certaines infections, en cas de cancers ou hémopathies, ainsi qu'en cas d'insuffisance rénale chronique.

Une augmentation du taux sanguin de fer (ou hypersidérémie) s'observe au cours de certaines formes d'anémies (anémies "hémolytiques", thalassémies). Elle traduit une surcharge en fer, lorsque l'absorption intestinale est supérieure aux besoins ou en cas de destruction des cellules du foie au cours d'une hépatite.

3-3-1-6- La protéine C réactive (la CRP)

La CRP est une petite protéine fabriquée par le foie. Elle reflète une inflammation aigue. C'est le marqueur le plus utilisé, le plus sensible et le plus fiable d'une inflammation. Son dosage dans le sang est donc utilisé pour mettre en évidence une inflammation. Les valeurs normales sont entre 0 et 6 mg/l. Mais, la CRP augmente au cours d'une inflammation sévère et elle décroît rapidement à l'arrêt de ce processus.

Partie II- Matériels et Méthodes

1- Matériel biologique

Les dosages réalisés pendant notre stage se font sur du sang veineux prélevé en absence ou en présence d'un anticoagulant spécifique selon le type de dosage.

2- Méthodes

2- 1- L'hématologie

2-1-1- L'hémogramme

L'hémogramme (Numération Formule Sanguine) est effectué à l'aide de l'automate sysmex Kx-21N. L'automate mesure les éléments figurés du sang à savoir les hématies, les globules blancs et les plaquettes. Des paramètres liés à ces éléments sont également mesurés. Il s'agit de :

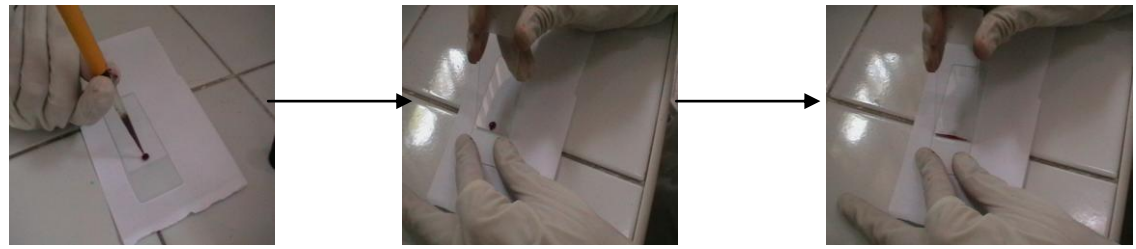
- taux d'hémoglobine,
- hématocrite

- volume globulaire moyen (VGM)
- teneur corpusculaire en hémoglobine (TCMH)
- concentration corpusculaire en hémoglobine (CCMH).

Les réticulocytes qui sont les précurseurs anucléés des hématies sont également comptés par l'automate de numération.

2-1-2- Réalisation du frottis sanguin

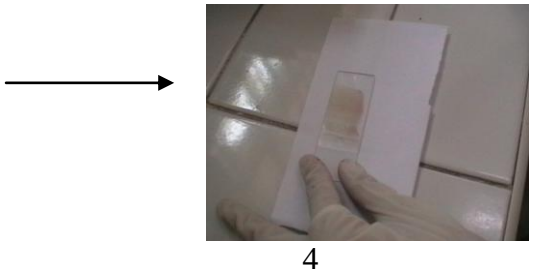
Le frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre colorée par le May Grunwald Giemsa et lue au microscope optique. Le prélèvement est effectué sur du sang veineux recueilli sur EDTA (éthylène diamine tétra acétique). Le sang est par la suite homogénéisé. La figure 1 montre les étapes successives de la réalisation du frottis sanguin. Le tableau 4 montre la coloration du frottis par Giemsa et May Grunwald.



1 Dépôt d'une goutte de sang

2 Couverture de la goutte avec une lame

3 Etalement de la goutte

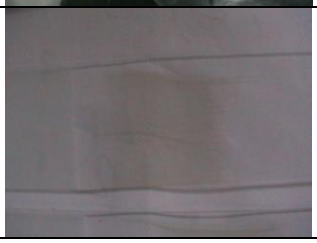


4 Réalisation de frottis

Figure 1. Réalisation du frottis sanguin

Tableau 4. Coloration du frottis sanguin

Etape	Images	Description
Etape 1		Fixation du frottis sanguin avec le méthanol (5 min)
Etape 2		Rinçage du frottis avec de l'eau
Etape 3		Coloration du frottis par le May Grünewald (de 3 à 5 minutes)

Etape 4		Rinçage avec de l'eau
Etape 5		Coloration par Giemsa dilué (1/10) pendant 2 à 3 minutes
Etape 6		Rinçage avec de l'eau
Etape 7		Séchage du frottis

2- 1- 3-Détermination des Groupes sanguins

Le principe de la méthode consiste à détecter des antigènes A, B et Rhésus dans le sang par les Anticorps anti A, anti B et Rh.

Le prélèvement est effectué sur du sang veineux recueilli sur un anticoagulant.

a- 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 2ème goutte, Anti AB à la 3ème goutte et une goutte de sérum anti D à la 4ème 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. Le tableau 5 montre les différents types de résultats qu'on peut avoir.



1
Dépôt des gouttes de sang sur la plaque

2
Ajout des anticorps sur le sang

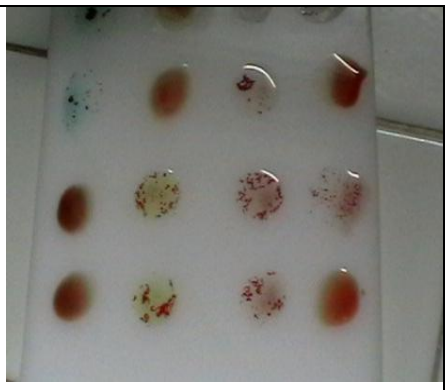
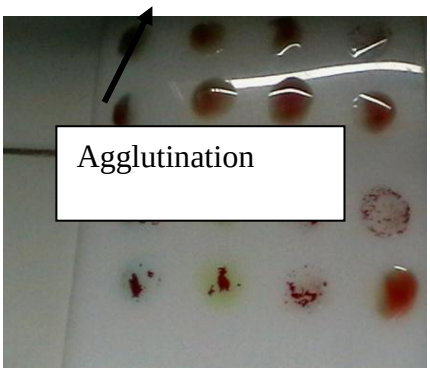
3
Mélange des gouttes



4
Faire des mouvements de rotation à la plaque

Figure 2. Etapes de la détermination du groupe sanguin

Tableau 5. Méthode de détermination des groupes sanguins et des rhésus		
Le groupe A	A^+ : Si la 1ère, la 3ème et la 4ème goutte donnent des agglutinations, tandis que la goutte restante ne donne pas des agglutinations. A^- : Si la 1ère, la 3ème goutte donnent des agglutinations, la 2ème et la 4ème goutte ne donnent pas des agglutinations	

Le groupe B	B^+ : si la $2^{ème}$, la $3^{ème}$ et la $4^{ème}$ goutte donnent des agglutinations, tandis que la $1^{ère}$ goutte ne donne pas des agglutinations B^- : si la $2^{ème}$ et la $3^{ème}$ goutte donnent des agglutinations, alors que les deux restantes ne donnent pas des agglutinations	
Le groupe O	O^+ : si la $4^{ème}$ goutte donne des agglutinations, alors que les trois premières gouttes ne donnent pas des agglutinations. O^- : si les quatre gouttes ne donnent pas des agglutinations	
Le groupe AB	AB^+ : si les quatre gouttes donnent des agglutinations. AB^- : si les trois premières gouttes donnent des agglutinations, alors que la $4^{ème}$ goutte ne donne pas des agglutinations	

2- 1- 4- Détermination des paramètres de la coagulation

Il s'agit de déterminer ici le taux de prothrombine (TP) et le temps de céphaline caolin (TCK).

2-1-4-1- Le taux de prothrombine

- Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse, il s'est fait sur citrate trisodique (un volume d'anticoagulant pour neuf volumes de sang).
- On centrifuge le flacon pendant 10 minutes à 2500 tours/minute pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.
- On met 50 microlitres du plasma dans une cuvette et on incube pendant une minute. On ajoute 100 microlitres du réactif (la thromboplastine) 10 secondes avant la fin de l'incubation.
- On exprime le TP en pourcentage par rapport à un plasma normal. Ce taux est donné par l'automate de mesure.

2-1- 4-2 **- Le temps de céphaline kaolin**

Le temps de céphaline kaolin mesure le temps de recalcification d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de céphaline.

Après centrifugation, 50 microlitres de plasma sont placés dans une cuvette. 50 microlitres de réactif (bio TCK) sont ensuite ajouté et incubé pendant 3 minutes.50 microlitres de $CaCl_2$ sont finalement ajouté 10 secondes avant la fin de l'incubation.

2- 2- La sérologie

Le diagnostic sérologique repose sur la mise en évidence des anticorps induits par l'infection et retrouvés dans le sérum.

Dans notre cas, la maladie de la syphilis et les antistreptolysines va être mises en évidence par les tests suivants :

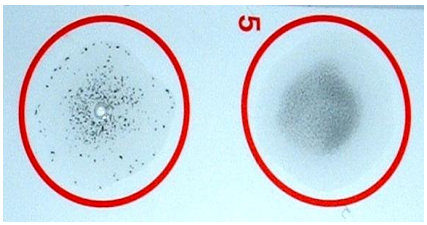
- Venereal Disease Research Laboratory (VDRL),
- Treponema Pallidum Hemagglutination Assay (TPHA),
- Antistreptolysines O (ASLO)

2-2- 1-Le VDRL

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse, et il se fait sur un flacon sec sans anticoagulant.

a- Réaction qualitative

- 50µL de sérum sont distribués dans chaque cercle de la plaque en verre.
- 16 µL d'Antigène VDRL est ensuite ajouté.
- La plaque est placée sur l'agitateur de Kline pendant 8 minutes.
- Les résultats sont enfin déterminés.



Agglutination : + Pas d'agglutination : -

Lorsqu'il y a agglutination, la réaction qualitative est jugée positive et on passe à la réaction quantitative.

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, la même réaction sera réalisée avec une série de dilution du sérum positif au (1/2, 1/4, 1/8, 1/16,1/32…) avec de l'eau physiologique.

Tableau 6. Procédure de la réaction quantitative du VDRL

Cercles	1	2	3	4
Eau physiologique	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16
Sérum à analyser en µL	50 µL de la réaction positive	50 µL à partir de la dilution 1/2	50 µL à partir de la dilution 1/4	50 µL à partir de la dilution 1/8
Agitation pendant 8 minutes				
Lecture (Agglutination + ou -)				

Le titre d'anticorps est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction négative nette.

2-2-2- Le TPHA

Il consiste à observer l'hemagglutination de globules rouges qui ont absorbé des antigènes du *Treponema pallidum*.

Le dépistage consiste à tester le sérum à la dilution de 1/80. Des dilutions sont effectuées pour le titre dans le cas du dépistage positif.

a- Réaction qualitative

- 190 µL du réactif TPHA Dilué sont distribués dans le premier puits de la plaque.
- 10 µL de sérum est ajouté sur le réactif.
- 75µL de TPHA test cells sont mis dans le 2ème puit, et le même volume de TPHA contrôle cells dans le 3ème puit.
- 25µL sont prises à partir du premier puit et mis dans le 2ème puit. La même quantité est mise également dans le 3ème puit
- La plaque est couverte pendant 40 minutes.
- La lecture est effectuée à l'œil nu. La lecture consiste à détecter la présence ou l'absence d'un voile.

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive (1/80) une série de dilutions du sérum (1/2, 1/4, 1/8…..) est réalisée et le titre d'anticorps est déterminée.

2-2-3- ASLO

Cette analyse recherche la présence dans le sang de certains anticorps développés spécifiquement au cours d'une infection à streptocoques (angine, scarlatine, rhumatisme articulaire aigu).

a- Réaction qualitative

- Une goutte de réactif des ASLO est mise dans le latex.
- 50 µL de sérum sont ajoutés.
- Le latex est placé sur l'agitateur de Kline.
- La lecture est effectuée à l'œil nu.

b- Réaction quantitative

Lorsque la réaction qualitative est positive, la même réaction sera réalisée avec une série de dilution du sérum au (1/2, 1/4, 1/8, 1/16,1/32…) avec de l'eau physiologique.

Le titre d'anticorps est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction négative nette.

2-3- La biochimie

2-3-1- Dosage par automate

L'automate utilisé en biochimie est nommé <<Sysmex kx-21N >>, il contient deux plateaux, l'un pour les réactifs et l'autre pour les échantillons. Après le prélèvement sanguin, les flacons sont centrifugés afin de séparer le sérum ou le plasma et les globules sanguins, ensuite on les dépose dans les plateaux des échantillons.

Le principe de cet automate est la colorimétrie. La coloration est mesurée par spectrophotométrie qui donne une densité optique. Cette densité optique est calculée par une formule par rapport à un étalon.

Les résultats sont affichés sur un ordinateur attaché à l'appareil et imprimés sur des papiers pour délivrer aux clients.

2-3-2- Dosage manuel en cas d'urgence

2-3-2-1- La glycémie

- On a pipeté 10 µL de l'échantillon, 10 µL de l'étalon (composé de l'urée, de glucose et de la créatinine) et 1 ml du réactif du glucose
- On a agité et on a incubé dans l'étuve à 37° pendant 10 minutes.
- On a mélangé et on a lu la concentration de glucose sur l'écran du spectrophotomètre à 450 nm.

2-3-2-1- L'urée

- Trois flacons sont préparés: le blanc, l'étalon et l'échantillon. Dans le premier on a mis 1ml de réactif A de l'urée (salicylate de sodium, nitroprussiate de sodium et un tampon phosphate), dans le 2ème on a mis 1ml de réactif A plus 10 µL d'étalon (composé de l'urée, de glucose et de la créatinine), dans le dernier on a mis 1 ml de réactif A plus 10 µL de l'échantillon à analyser.
- Les flacons sont incubés dans l'étuve pendant 10 min.
- Après incubation, on a ajouté 1ml du 2ème réactif B (hypochlorite de sodium et hydroxiade de sodium) dans les trois flacons, et on a incubé une 2ème fois pendant 10 min.
- Après la stabilisation d'une coloration verte, on a mélangé et on a lu la concentration à 450nm par le spectrophotomètre.

Partie III- Résultat et Discussion

1- Hématologie

1-1- Résultat d'une NFS

Tableau 9. Numération et formule d'un sujet sous chimiothérapie. Comparaison avec les valeurs normales.

Paramètre	Valeur	Référence
GB (/ mm^3)	600	4000 à 10000
GR (million / mm^3)	2,13	4,2 à 5,7
HB (g / 100ml)	6,0	14 à 17
HT (%)	17,8	40 à 52
VGM / μ^3	83,6	80 à 100
TCMH pg	28,2	28 à 32
CCMH %	33,7	30 à 35
PLT (/ mm^3)	25	150 à 400

Les résultats du tableau 9 montrent que chez ce sujet les trois lignées du sang (les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes) sont présentes à des valeurs très inférieures à la valeur normale. Ce sujet présente donc une anémie, une thrombopénie et une leucopénie. Il s'agit d'une pancytopénie.

Le patient ici est sous chimiothérapie, or la chimiothérapie est fondée sur l'emploi des produits toxiques qui agissent sur les cellules au moment de la division cellulaire. Elle agit sur les cellules cancéreuses, mais aussi sur les cellules normales en prolifération rapide. Parmi ces cellules se trouvent les cellules sanguines qui se renouvellent rapidement. Il est donc normal qu'un traitement chimiothérapique s'accompagne d'une diminution du taux des cellules sanguines dans le sang.

Les globules blancs protégent l'organisme contre les infections. Leur diminution après une chimiothérapie expose le malade aux infections. Cependant, le nombre de globules blancs peut remonter 3 semaines après une séance de chimiothérapie. Cela dépend de l'alimentation et des conditions de vie. Toutefois, si la quantité des globules blancs n'est pas remontée, la prise des facteurs de croissance pour corriger cet abaissement et limiter le risque d'infection est indispensable afin de stimuler la moelle osseuse à produire ces cellules.

L'anémie se caractérise par une diminution de nombres des globules rouges dans le sang. Cette diminution signifie aussi une diminution d'hémoglobine qui est un

constituant essentiel des globules rouges responsable du transport de l'O_2 vers les tissus du corps. La diminution de l'hémoglobine à pour conséquence de réduire la quantité d'O_2 distribuée aux tissus. Le manque d'O_2 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 la stimulation de la moelle osseuse à fabriquer plus de globules rouges que la normale.

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 à 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, certains paramètres tels que le VGM, le TCMH ou le CCMH sont présents avec des taux normaux. En effet, le TCMH ou le CCMH n'ont pas d'intérêt diagnostic, dans certains cas leurs taux bas peuvent confirmer une hypochromie (manque de fer).

1-2- Résultats d'un frottis sanguin

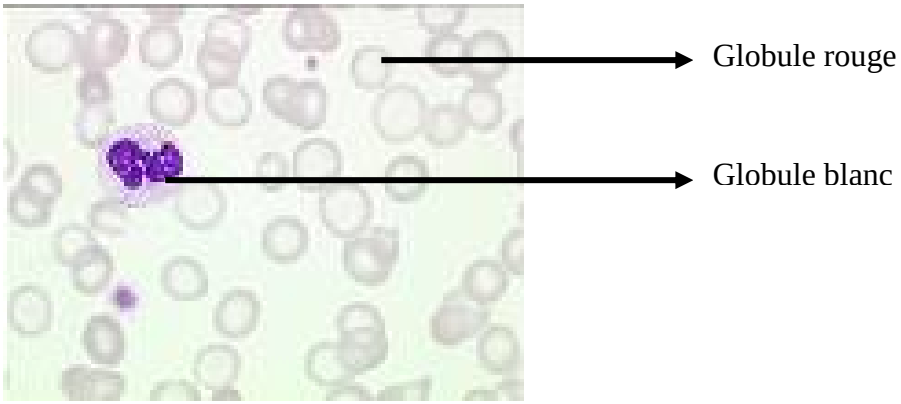


Figure 3. Frottis sanguin d'un individu atteint d'une Anémie microcytaire hypochrome

La figure 3 montre que les globules rouges présentent une taille inférieure à la normale. 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 ce sang a donné des hématies hypochromes. Cette anémie microcytaire hypochrome peut être due à une carence en fer (hyposidérémie). Le fer est, en effet, un

constituant de l'hémoglobine. Une hyposidérémie peut être à l'origine d'une diminution du taux d'hémoglobine dans le sang et par conséquent d'une anémie hypochrome.

1-3- Résultat d'un TP et TCK

Tableau 11 : Résultat d'une femme en ceinte sous AVK

Paramètre	Valeur	Référence
TP	35%	70 et 100%
TCK	37 secondes	30 et 40 s

D'après le tableau 11 on remarque que le TP est allongé alors que le TCK est normal, cela est du à l'action des AVK. Le traitement anti-vitamines K (AVK) a pour but de ralentir la coagulation du sang de façon à éviter la formation intempestive de caillots à l'intérieur des vaisseaux. Le risque principal de ce traitement est, évidemment, la survenue d'hémorragies.

La vitamine K intervient dans la synthèse, par le foie, de 4 molécules de la coagulation, les facteurs II, VII, IX et X, et de 2 inhibiteurs de la coagulation, la protéine C et la protéine S. La vitamine K est un cofacteur de la carboxylase ; la gamma-carboxylation permet la fixation des facteurs de coagulation sur les phospholipides des membranes cellulaires.

2- Exemple de résultat sérologique : Test TPHA

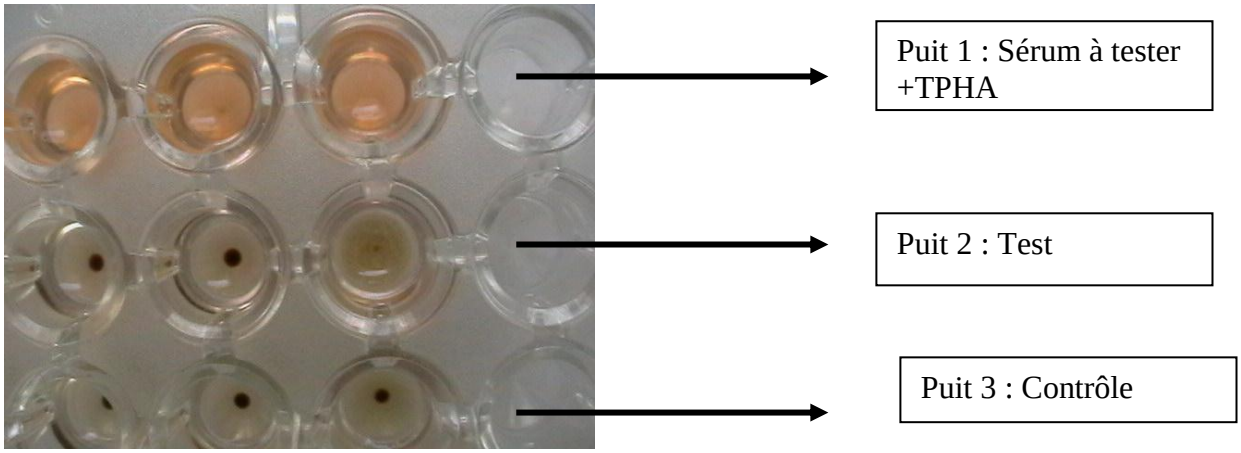


Figure 4. Résultats de TPHA des femmes enceintes

La figure 4 montre que pour le sérum 1 et 2 il y a un anneau très serré à bord net (absence de voile). Le TPHA est donc négatif. Tandis que pour le sérum 3 dans le 2ème puit il y a un voile couvrant le 1/3 du puit. Le TPHA est donc positif. Ce résultat positif indiquant la forte probabilité d'avoir la syphilis a été confirmée par le test VDRL qui s'est révélé positif. Cette femme enceinte a un risque de transmission de la syphilis pour le fœtus. La recherche des IgM chez cette femme, permet de faire la distinction entre une syphilis ancienne guérie (taux d'anticorps résiduels) et une syphilis évolutive. Un suivi sérologique d'abord de la mère puis de l'enfant est indispensable.

3- Exemple de résultat biochimique

Tableau 12. Type de résultats biochimique

Type	Valeur	Unité	Référence	Observation
Glucose	1,90	g/l	0,7 et 1,1	haut
Urée	0,84	g/l	0,15 et 0,5	haut
Acide urique	79,90	mg/l	25 et 70	haut
Créatinine	30,14	mg/l	6 et 12	haut
Cholestérol	2,06	g/l	1,5 et 2	normal
Cholestérol HDL	0,797	g/l	0,35 et 0,6	haut
Triglycérides	1,55	g/l	0,4 et 1,5	haut
ASAT	160	U/l	5 et 40	haut
ALAT	110	U/l	5 et 45	haut
CRP	7,2	mg/l	0 et 6	haut

Le tableau 14 montre que chez ce sujet, à part le taux de cholestérol qui est normal, tous les autres paramètres dosés présentent des valeurs largement supérieures à la normale. Le taux de glucose indique que le sujet peut être diabétique. L'augmentation du taux de l'urée et de la créatinine peut témoigner d'une insuffisance rénale. L'urée et la créatinine sont, en effet, des composés filtrés et éliminés par les reins. Une détérioration de la filtration glomérulaire entraîne une augmentation de ces composés dans le sang.

Le taux d'acide urique montre qu'il y a une probabilité d'avoir la goutte, mais pour le confirmer on peut avoir recours à un examen microscopique d'un liquide prélevé d'une

articulation. S'il s'agit de la goutte, des cristaux d'acide urique ayant la forme d'aiguilles apparaîtront lorsque le liquide sera examiné sous une lumière *polarisante*

Le bilan lipidique montre que les triglycérides sont augmentés. On peut lier cette augmentation au diabète ou encore à la goutte que cet individu peut avoir, étant donné que son taux d'acide urique supérieur à la normale.

Enfin, le taux des transaminases est augmenté par rapport à la normale, les indices qui peuvent être la cause de cette augmentation sont éventuellement soit une cirrhose, soit une hépatite aigue ou chronique.

Les transaminases étant présentes dans différents tissus de l'organisme tels que le myocarde, les reins, le foie…..etc. une augmentation de ces dernières, pourrait être un signe probable d'une pathologie touchant ces tissus.

Conclusion Générale

Les analyses médicales 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 les laboratoires, il s'agit des analyses hématologiques, 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. Le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Mohammed V de Sefrou est doté de ce type d'appareils. Cependant des dosages classiques manuels sont encore appliqués à l'hôpital.

Le stage effectué au sein du laboratoire d'analyses médicales a été très enrichissant. Il m'a permis de montrer mes capacités à s'intégrer dans un travail d'équipe, comme il m'a offert une vision très 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.

Références bibliographiques

Articles

Bablok W. (1988) - Procedure for method transformation Vol, 26, p 783 – 790.

Leisinski J, Krach J, Brit J , Vener.D et Kadzuwicz J.(1974) - Diagnostic Procedures in the rheumatic Disesse Vol,50, p 334-340.

Young H et Int J. (1992) – New diagnostic direction of syphilis, Vol, 6, p. 391 – 413.

Manuel du ministère de la santé

Les Procédures opératoires standardisés de biologie médicale, 1ère édition 2001.

Sites Web

http : //www.analyses médicales- doctissimo
http:// www.vulgaris médicales- strept/classification streptocoques.