

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE KASDI-MERBAH -OUARGLA



FACULTÉ DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie  
Option Biochimie

## THEME

# *Techniques d'analyses hématologiques Par système VACUTAINER*

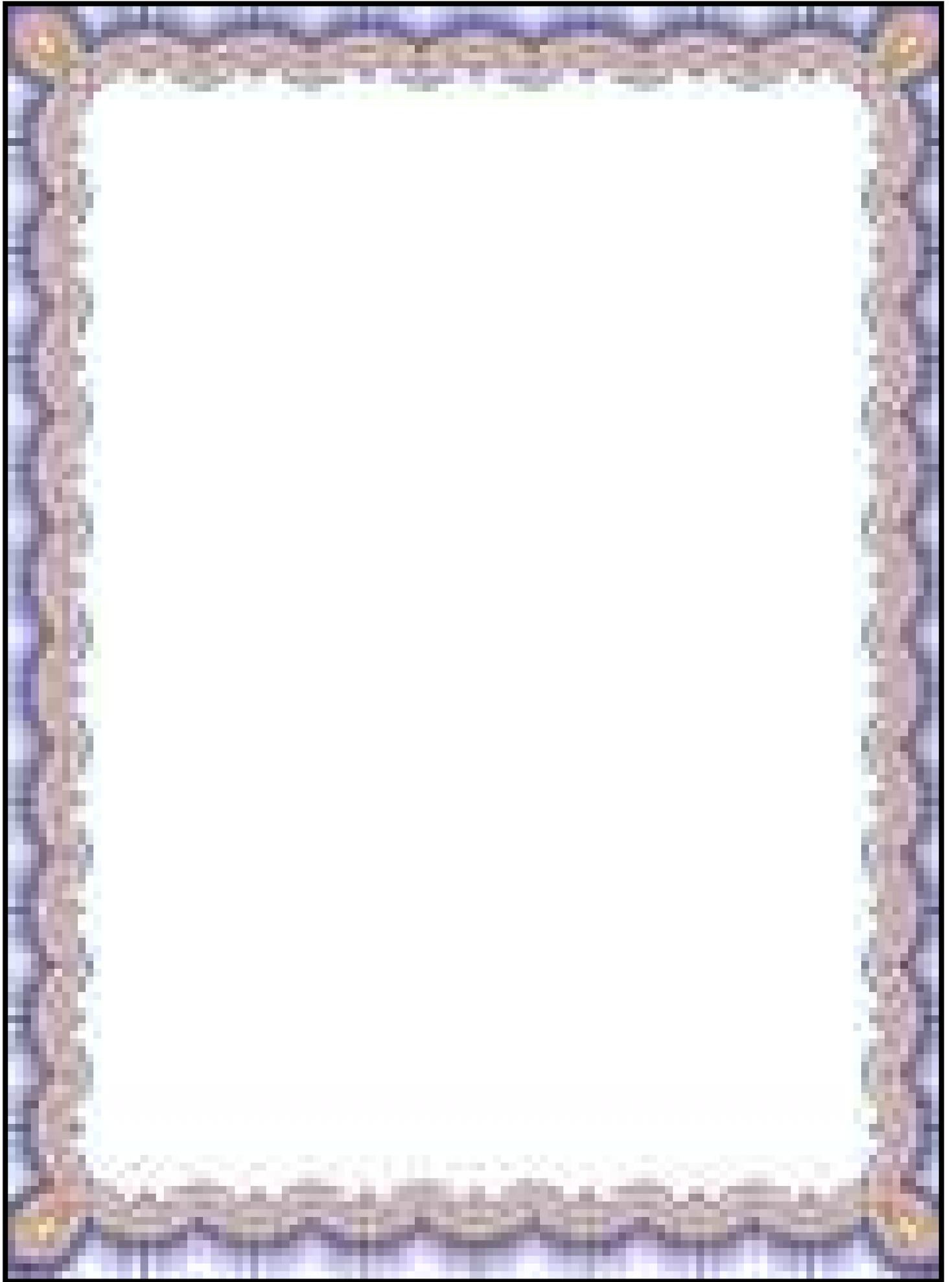
*Présenté par :*

- FARAH Lynda  
- GHILANI Mébarka

*Devant:*

Président :	M <sup>r</sup> . CHAABENA A.	(M. A)	Université kasdi-Merbah Ouargla
Promoteur :	M <sup>me</sup> BISSATI S.	(M. C)	Université kasdi-Merbah Ouargla
Copromoteur :	M <sup>r</sup> . OULD EL HADJ MD.	(M. C)	Université kasdi-Merbah Ouargla
Examineur :	M <sup>elle</sup> HAMID OUDJANA A.	(D.E.S.B)	Université kasdi-Merbah Ouargla

*Année universitaire 2006/2007*



## Liste des abréviations utilisées

- ASLO: AntiStriptoLysine O.
- Ac : Anticorps,
- Ag : Antigène,
- BD : Becton Dickinson
- CRP : Protéine C Réactive,
- CTAD : Citrate Théophylline Adénosine Dipyridamole,
- EDTA : Ethylène Diamino Tétracétique,
- IgG : Immunoglobuline de type G,
- INR : International Normalised Ratio / Ratio du Normalisé International,
- R.P.A : Répertoire des Prestations d'Analyses,
- TP : Taux de Prothrombine,
- Tubes en P.E.T : Tubes en polyéthylène téréphtalate
- TQ : Temps de Quick,
- TCK : Temps Céphaline Kaolin,
- U/l : Unité Frankel par litre,
- $\mu$ /l : Micro litre
- V/l : Volume par litre,
- VS : Vitesse de Sédimentation,
- SST: standard sérum test
- SV : système VACUTAINER,
- SWG : Standard Wire Gauge,

# Table des matières

## Première partie : Synthèse bibliographique

<b>INTRODUCTION</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : Généralités</b>	
1 Généralités	02
1.1. Le sang	02
1.2. Nature des examens et dosages sanguins	03
1.3. Anticoagulants	03
1.3.1. Héparine	04
1.3.2. EDTA	04
1.3.3. Citrate	05
<b>Chapitre II : Prélèvement du sang</b>	
2. Prélèvement du sang	08
2.1. Prélèvement par seringue	08
2.1.1. Définition	08
2.1.2. Modalités de réalisation et de transmission du prélèvement	08
2.1.3. Modes de conservation	09
2.1.4. Conditionnement, Délai et transport	09
2.1.5. Méthodes de prélèvement	10
2.1.5.1. Matériel utilisé	10
2.1.5.2. Point de ponction	11
2.1.5.3. Technique de prélèvement	13
2.2. Prélèvement par système VACUTAINER®	14
2.2.1. Définition	14
2.2.2. Les avantages de ce système	14
2.2.3. Risques, préventions, précautions	15
2.2.4. Matériels et étapes	15
2.2.5. Minimiser les facteurs d'influence	16
2.2.6. Les effets préanalytiques	17
2.2.7. Accessoires de prélèvement	18
<b>Chapitre III : Quelques examens hématologiques</b>	
3. Quelques examens hématologiques	25
3.1. Sérologie	25
3.1.1. Vitesse de sédimentation (VS)	25
3.1.1.1. Définition	25
3.1.1.2. Conditions de prélèvement	25
3.1.1.3. Mesure classique	25
3.1.1.4. Valeurs usuelles	27
3.1.1.5. Méthode de mesure par système SEDITAINER	28
3.1.2. La Protéine C Réactive (CRP)	29
3.1.2.1. Définition	29
3.1.2.2. Conditions de prélèvement	29
3.1.2.3. Méthodes de mesure	30

3.1.2.4. Valeurs usuelles	30
3.1.3. Antistreptolysine O (ASLO)	30
3.1.3.1. Définition	30
3.1.3.2. Conditions de prélèvement	31
3.1.3.3. Valeurs normales	31
3.1.3.4. Principe de détection des ASLO	31
3.2. Hémostase	33
3.2.1. Définition	33
3.2.2. Facteurs de coagulation	33
3.2.3. Temps de saignement (TS)	34
3.2.3.1. Définition	34
3.2.3.2. Conditions de prélèvement	34
3.2.3.3. Valeurs normales	36
3.2.4. Taux de prothrombine - Temps de Quick et INR	36
3.2.4.1. Définition	36
3.2.4.2. Conditions de prélèvement	36
3.2.4.3. Valeurs normales	36
3.2.5. Fibrinogène	37
3.2.5.1. Définition	37
3.2.5.2. Conditions de prélèvement	37
3.2.5.3. Valeurs normales	37
3.2.6. Temps de céphaline (TCK)	37
3.2.6.1. Définition	37
3.2.6.2. Conditions de prélèvement	38
3.2.6.3. Valeurs normales	38

## **Deuxième partie : Stage pratique**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes (stage pratique)**

1. Matériels et méthodes	39
1.1. Méthode de travail	39
1.2. Appareillage	40
1.3. Réactif	41
1.4. Méthodes	42
1.4.1. Modes opérations	42
1.4.2. Dosages	42

### **Chapitre II : Résultat et discussions**

2. Prélèvement du sang	45
2.1. Le contact avec l'échantillon	45
2.2. Volume d'aspiration et la coagulation	46
2.3. Variation dans les paramètres analytiques	47
2.4. La centrifugation du tube et la formation de caillot	48

### **Conclusion**

49

## Liste des figures

Figure 1:	Points de ponction en vue d'un prélèvement de sang veineux	12
Figure 2:	Triple biseau	18
Figure 3:	Le manchon	18
Figure 4:	Le corps VACUTAINER et l'aiguillé	18
Figure 5:	Aiguilles standard	19
Figure 6:	Aiguille Quick fit à baïonnette	19
Figure 7:	Unités de prélèvements à ailettes	21
Figure 8:	Prélèvement par VACUTAINER	22
Figure 9:	Matériel de mesure des vitesses de sédimentation	27
Figure10:	Etapes de SEDITAINER	28
Figure11:	Bain marie	40
Figure12:	Centrifugeuse	40
Figure13:	Chronomètre	40
Figure14:	Lame et cure-dents plastique	40
Figure15:	Seringues	40
Figure16:	Tubes et poires	40
Figure17:	Micropipette	40
Figure18:	Nombre d'accident par jour	45
Figure19:	Nombre d'accident par semaine	46
Figure20:	Variations de la vitesse d'aspiration selon le volume de tube	47
Figure21:	Variations analytiques	47
Figure22:	Variations de la centrifugation	48

## Liste des tableaux

Tableau 1:	Données relatives aux anticoagulants courants	<b>03</b>
Tableau 2:	Mode d'action des anticoagulants	<b>06</b>
Tableau 3 :	Guide des tubes	<b>07</b>
Tableau 4 :	Aiguilles standard	<b>19</b>
Tableau 5 :	Aiguilles Quick fit	<b>20</b>
Tableau 6 :	Corps de prélèvement pour flacons hémoculture	<b>20</b>
Tableau 7 :	Tubes en P.ET (polyéthylène – téréphtalate)	<b>24</b>
Tableau 8 :	Variations pathologiques de la VS	<b>29</b>
Tableau 9 :	Spécificité et cinétique	<b>30</b>
Tableau10:	Facteurs de coagulation et substances apparentées	<b>33</b>
Tableau11:	Modification du TS selon l'age	<b>35</b>
Tableau12:	Variation de TQ, TP et INR	<b>37</b>
Tableau13:	Détermination de TP (au bain-marie avec un crochet)	<b>43</b>
Tableau14:	Détermination de fibrinogène (au bain-marie avec un crochet)	<b>43</b>
Tableau15:	Détermination de TCK (au bain-marie avec un crochet)	<b>44</b>

# Introduction

Le sang assure le transport de nombreuses substances à travers tout le corps, et ce, via le système vasculaire. En moyenne, 5 litres de sang coulent dans le corps humain. Ainsi, l'hématologie regroupe l'analyse des cellules du sang mais aussi d'éléments dissous dans le plasma comme les facteurs de la coagulation et les anticorps (ODOU, 2002).

Le prélèvement sanguin est souvent indispensable pour la détection de diverses pathologies. Il permet aux praticiens après analyses de confirmer les 'anomalies' soupçonnées et ainsi d'établir un traitement adéquat.

Les laboratoires, selon leurs matériels, utilisent diverses techniques d'analyses sanguines, partant du prélèvement jusqu'à l'obtention des résultats d'analyses. A cet effet, les résultats peuvent varier selon les techniques utilisées et ce pour un même échantillon. Les raisons peuvent être diverses : prélèvement, réactifs, appareillage, sachant que les prélèvements sanguins doivent être assurés selon des règles précises.

Notre présent travail a pour but de comparer l'efficacité entre 02 systèmes de prélèvement sanguins : le prélèvement classique par seringue et le système **VACUTAINER**.

---



**PREMIERE PARTIE**

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

# Chapitre I : Généralités

## 1. Généralités

### 1.1. Le sang

Le sang est un tissu conjonctif constitué de cellules en suspension dans un liquide (plasma) (CALAS *et al*, 1997).

Les examens biologiques sont réalisés sur :

**1. Sang total** : plasma + éléments figurés (globules rouges et blancs, plaquettes)

**2. Plasma** : partie liquide du sang recueilli sur anticoagulant et obtenue après séparation des éléments figurés par centrifugation (BÉRAUD, 2001).

Le Plasma est un liquide dans lequel baignent les éléments figurés du sang, il représente environ 50% du volume sanguin (CALAS *et al*, 1997). Dans les laboratoires, le plasma, après ajout d'une substance anticoagulante, est séparé des autres constituants du sang par sédimentation ou par centrifugation (Encarta, 2004). Le plasma est le surnageant pratiquement sans cellules obtenu après centrifugation de sang complet. Pour certains paramètres, il existe une différence significative entre les deux matériaux (centrifugeuses et sédimentation).

Différentes raisons sont à l'origine de ces différences :

- La substance en cause peut être consommée pendant le processus de coagulation (fibrinogène, plaquettes, glucose) (VUILLE, 2002).
- La substance peut être libérée des cellules lors du processus de coagulation (potassium, lactate déshydrogénase, phosphates, ammonium, lactate).

L'anticoagulant peut interférer avec la méthode d'analyse ou peut contaminer l'échantillon. Le fibrinogène peut interférer avec certaines de ces méthodes (VUILLE, 2002). Dans le plasma en dose Les facteurs du coagulation (ex : vitamine K) (BÉRAUD, 2001).

- **Sérum** : il est obtenu à partir de sang complet après avoir laissé se faire le processus de coagulation. Il faut donc considérer le sérum comme un artefact. Il ne contient plus par définition les facteurs de coagulation, mais est enrichi par les composants cellulaires des plaquettes et de produits de métabolisation (VUILLE, 2002). Dans le sérum en dose Les constituants biochimiques (glucides, lipides, protides, minéraux), les hormones et les enzymes, les anticorps et les antigènes.
-

## 1.2. Nature des examens demandés

Chaque patient a besoin d'analyses différentes telles que :

- **Biochimie** : domaine constitué par la chimie moléculaire des organismes vivants (dosage d'une molécule) (Encarta, 2004).
- **Microbiologie** : recherche d'un germe pathogène par examen direct et/ou culture (BÉRAUD, 2001). Suivant le pathogène recherché on distingue 3 types :
  - **Bactériologique**: étudie les bactéries
  - **Parasitologique, mycologique**: étude des organismes vivants qui vivent aux dépens d'autres organismes vivants, en vue de mettre au point des traitements efficaces contre les maladies qu'ils sont susceptibles de provoquer (Encarta, 2004).
  - **Virologique**: partie de la microbiologie spécialisée dans l'étude des micro-organismes infectieux (constitués d'un seul type d'acide nucléique ADN) et parasites obligatoires des cellules vivantes,
- **Immunologie** : recherche des anticorps ou bien des antigènes spécifiques et des marqueurs immunologique (BÉRAUD, 2001). Consisté à des mécanismes biologiques permettant à l'organisme de se défendre contre les agents infectieux et les substances toxiques ou étrangères (Encarta, 2004).
- **Hématologie** : numération et étude cytologique des éléments figurés du sang, analyse de la coagulation sanguine,
- **Dosage des médicaments** : détermine l'intoxication de patient (recherche des toxiques)

## 1.3. Anticoagulants

La coagulabilité est inhibée par adjonction d'un anticoagulant (tableau 1) juste après le prélèvement

**Tableau 1: Données relatives aux anticoagulants courants (VUILLE, 2002)**

Anticoagulant	Application	Couleur de bouchon
Aucune donnée du serum	Chimie clinique, sérologie	ROUGE
Héparinates (14,3 U/ml)	Chimie plasmatique	VERT
EDTA (di-K ou tri-K) 1,5 mg/ml	Hématologie	LILAS
Citrate de sodium (0,105 mol/l)	Coagulation Vitesse de Sédimentation	BLEU NOIR
Fluorure de sodium (2,5 mg/ml) / oxalate de potassium (2,0 mg/ml)	Glucose, Lactate	GRIS

### 1.3.1. Héparine

L'héparine accélère l'inhibition du facteur Xa par l'antithrombine III, et de ce fait empêche la coagulation. Les sels d'héparine sont très utilisés pour l'obtention de plasma en chimie clinique (VUILLE, 2002).

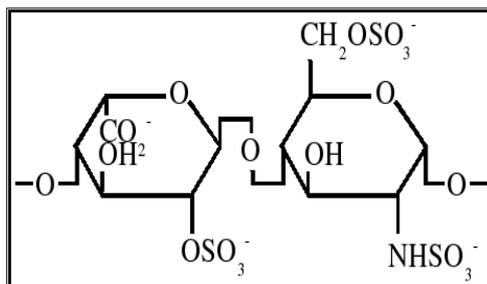
Sel de sodium d'esters sulfuriques d'un polysaccharide complexe présent dans les tissus animaux et ayant la propriété caractéristique de retarder la coagulation du sang (AMAR, 1992). L'héparine est un : Polyholoside, polymère incolore. Sa molécule (s) de base : héparine. Son mécanisme d'action se passe par deux étapes :

**Principal :** est une action d'anticoagulante nécessite la présence de cofacteurs plasmatiques (antithrombine III) (AMAR, 1992).

**Secondaire :** basée sur l'agrégation et l'adhésivité plaquettaire, elle ne se manifeste que pour de fortes doses d'héparine. Elle s'oppose par son action antithrombine à la libération de certains facteurs plaquettaires (facteur III) (AMAR, 1992).

**Formule chimique :**

- **Formule brute :**  $C_{10}H_6N_1S_3O_{19}, 2H_2O$
- **Formule semi développé :**



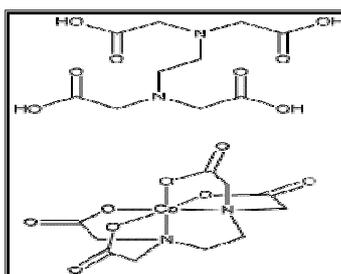
### 1.3.2. Ethylènediaminotétraacétique (EDTA)

Est un acide complexe le calcium nécessaire à la coagulation. Il est utilisé en hématologie. L'EDTA, par ses propriétés complexantes ne va pas pour beaucoup de paramètres de chimie clinique. (VUILLE, 2002). L'EDTA est un cristal inodore, avec une couleur blanche son PH est entre 4 et 5.

**Formule chimique :**

- **Formule brute :**  $C_{10}H_{14}N_2O_8, H_2O$
- **semi développé :**

Selon (VUILLE, 2002)



### 1.3.3. Citrate de sodium

C'est ligand du calcium. Le citrate est utilisé pour obtenir du plasma en vue d'examens de coagulation (rapport sang/coagulant 1/10) ou pour la mesure de la vitesse de sédimentation (rapport 1/5) (VUILLE, 2002). Le citrate se présente sous forme de cristaux inodore blanc, son pH est égal à 8 (BURG, 2003).

**Poids moléculaire :** 294.10 (BURG, 2003).

**Formule chimique :**

**Formule brute :**

**$C_6H_5O_7Na_3, 2H_2O$**  (BURG, 2003).

**Formule développée :**

(BURG, 2003).

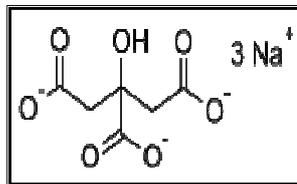


Tableau 2 Résumé l'action des anticoagulants utilisés en hématologie

Anticoagulant	Mode d'action	Schéma détermine le mode d'action
<b>Héparine</b>	L'héparine accélère l'inhibition du facteur Xa par l'antithrombine III (facteur tissulaire) et empêche la transformation de Prothrombine (facteur II) en Thrombine (facteur IIa)	<p><b>Facteur tissulaire, VIIa</b></p> <pre> graph TD     X -- Ca++ --&gt; Xa     Xa --&gt; II     II -- Ca++ --&gt; IIa     IIa --&gt; Fibrine     Fibrinogen --&gt; Fibrine </pre>
<b>EDTA</b>	Complexé le calcium nécessaire à la coagulation. Empêche le calcium de s'ioniser par chélation. Sans calcium ionisé, le phénomène de coagulation ne peut se produire.	<p><b>XIIa, XIa, IX</b></p> <pre> graph TD     X -- Ca++ --&gt; Xa     Xa --&gt; II     II -- -Ca++ --&gt; IIa     IIa --&gt; Fibrine     Fibrinogen --&gt; Fibrine </pre>
<b>Citrate</b>	C'est ligand du calcium. Le citrate de sodium neutralise les ions de calcium pour former un complexe non ionisé (citrate de sodium)	<p><b>Facteur tissulaire, VIIa</b>      <b>XIIa, XIa, IX</b></p> <pre> graph TD     X -- Ca++ --&gt; Xa     Xa -- Ca++ --&gt; II     II -- Ca++ --&gt; IIa     IIa --&gt; Fibrine     Fibrinogen --&gt; Fibrine </pre>

Tableau 03: Guide des tubes (LAKES, 2007)

Tubes BD Vacutainer™ avec fermeture hemogard	Tubes BD Vacutainer™ avec bouchon conventionnel	Additif	Usage de laboratoire
 Or	 Rouge / Noir	Activateur du caillot et gel pour séparation du sérum	SST. Tube pour sérum déterminations en chimie.
 Rouge		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aucun (verre)</li> <li>• Activateur du caillot</li> </ul>	Pour déterminations du sérum en chimie et sérologie. Les tubes de sérum en verre sont recommandés pour banque de sang. Les tubes en plastique contiennent l'activateur du caillot
 Royal Bleu		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Héparine du sodium</li> <li>• Na<sub>2</sub>EDTA</li> <li>• Aucun (tube de sérum)</li> </ul>	Pour traces d'éléments, toxicologie et chimie alimentaire.
 Lavande		<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sub>3</sub>EDTA liquide (verre)</li> <li>• K<sub>2</sub>EDTA aérosol-séché (plastique)</li> </ul>	K <sub>3</sub> EDTA pour les déterminations de l'hématologie du sang. K <sub>2</sub> EDTA pour hématologie du sang entière déterminations et essai de l'immunohématologie
 Bleu		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 105M citrate de sodium (3.2%)</li> <li>• 129M sodium de citrate (3.8%)</li> <li>• Citrate théophylline adénosine dipyridamole (CTAD)</li> </ul>	Pour les déterminations de la coagulation. Les inversions du tube empêchent la coagulation.

# Chapitre II : Prélèvement du sang

## **2. Prélèvement du sang**

### **2.1. Prélèvement par seringue**

#### **2.1.1. Définition**

La **seringue** est une pompe munie d'un piston sur laquelle on adapte une aiguille ou une canule et qui sert à l'injection ou au prélèvement (d'un liquide) (Encarta, 2004).

Le prélèvement par seringue est une méthode contre indiquée en raison des risques d'activation de coagulation dus à l'aspiration et aux remplissages secondaires des tubes, néanmoins, en cas d'utilisation de cette procédure, il faut respecter les recommandations suivantes :

- Seringue en plastique et non en verre,
- Volume prélevé est inférieure à 20 ml,
- Réparation immédiate du sang, si le tubes contenant d'anticoagulant,

#### **2.1.2. Modalités de réalisation et de transmission du prélèvement**

Lors de prélèvement sanguin on distingue différentes étapes.

##### **a. Remplissage des tubes**

Les tubes doivent être suffisamment remplis. En cas de remplissage insuffisant, ne jamais compléter le niveau à l'aide d'un autre tube (BÉRAUD, 2001).

##### **b. Ordre de remplissage des tubes**

Pour limiter les risques de contamination, il faut toujours prélever en premier, les tubes ou flacons destinés à une étude microbiologique (hémoculture) selon l'ordre suivant:

- 1) Les tubes secs ou sans additif,
- 2) Les tubes citrates,
- 3) Les tubes héparines,
- 4) Les tubes contenant des additifs (EDTA, THROMBINE, FLUORURE) (BÉRAUD, 2001).

##### **c. Étiquetage et fiche de prélèvement**

Dans l'étiquetage, il faut prendre en compte l'étiquette elle-même, la fiche de prélèvement et certains impératifs à respecter:

- Faire figurer le nom, le prénom, la date de naissance, le sexe et le nom de service.
  - Présence d'un code barre permettant le suivi du prélèvement pendant toute la période analytique et garantissant une meilleure sécurité :
  - Faire figurer la date, l'heure du prélèvement, le nom du préleveur.
-

Ainsi que les renseignements cliniques ou thérapeutiques en fonction des analyses demandées, doivent être mentionnés.

- Il faut vérifier la concordance entre la prescription et la fiche de prélèvement. Il ne faut jamais étiqueter les tubes à l'avance, surtout s'il y a plusieurs prélèvements par le préleveur lui-même. L'identification doit être lisible et explicite (Encarta, 2004).

### **2.1.3. Modes de conservation**

Plusieurs modes sont utilisés

- Par le froid à +4°C (pour le sérum ou le plasma et le sang totale),
- Par congélation le plasma à <-30°C et le sérum < 80°C (BÉRAUD, 2001).

### **2.1.4. Conditionnement et délai et transport**

\* **Conditionnement** : Une fois prélevés, les tubes doivent être conditionnés dans un conteneur adapté (étanche et antichoc). Pour les prélèvements à l'extérieur du laboratoire, ce conteneur doit être placé dans un emballage résistant aux chocs, (BÉRAUD, 2001).

\* **Délai** : Il varie selon la nature des analyses demandées et la distance à parcourir. Certains paramètres seront à respecter:

- Délai maximal entre le prélèvement et la réalisation de l'examen,
- Température optimale (température ambiante, glace ou carboglace).
- Intolérance à la lumière.

#### **Exemple**

- Le dosage de la vitamine **B12** se fait à l'abri de la lumière. Il est acheminé en moins de deux heures à +4°C.

\* **Transport** : Dans le cas où le laboratoire préleveur n'effectue pas lui-même l'examen une réglementation spécifique doit s'appliquer pour un transport par voie routière ou aérienne il faut respecter ces règles suivantes :

- Transport d'une substance potentiellement dangereuse,
- Étiquetage particulier doit mentionner la conduite à tenir en cas de détérioration du paquet (Encarta, 2004).

Pour un prélèvement destiné à la recherche de virus, le transport doit être rapide et s'effectuer dans la glace (Encarta, 2004).

---

## 2.1.5. Méthodes de prélèvement

### 2.1.5.1. Matériels Utilisés

Pour des raisons de sécurité et d'hygiène, l'utilisation du matériel à usage unique est vivement recommandée malgré son coût. Ce matériel est conditionné et stérilisé à l'échelle industrielle (la stérilisation par rayonnement ionisant). Comme son nom l'indique (usage unique), il ne s'utilise qu'une seule fois et ne doit en aucun cas être impérativement éliminé après usage car il fait partie des déchets "**contaminés**".

L'élimination répond à des règles strictes d'hygiène qui sont (BÉRAUD, 2001) :

- Respect des conditionnements appropriés à l'aide de conteneurs rigides et étanches pour les aiguilles et autres objets tranchants (ne pas remplir les conteneurs au d à limite de remplissage) à l'aide de sacs poubelles étanchant, hermétiquement fermés, identifiables d'une couleur spécifique.
- Respect du délai de stockage qui est inférieur à 72 heures,
- Respect du bon acheminement vers l'usine d'incinération.

Pour le prélèvement de **sang veineux** on dispose de seringues, d'aiguilles de calibre différent, et de seringues montées. Les tubes utilisés pour ces systèmes sont identifiables (code de couleur au niveau des bouchons et des étiquettes), afin de respecter l'ordre de prélèvement. Pour permettre un remplissage précis, un trait de jauge est signalé sur chaque tube. Ils apportent la sécurité et la propreté, tant pour le préleveur que pour le prélevé, une diminution du risque de contamination par la rapidité car l'écoulement de sang est accéléré par le vide. En revanche, il est un peu plus difficile de contrôler l'entrée de l'aiguille dans la veine et son maintien. Des unités de prélèvement à ailettes sont utilisées en cas de prélèvement sur veines délicates (veines fragiles, faible pression veineuse comme par exemple chez les nourrissons). (BÉRAUD, 2001):

- Pour l'hémoculture, le dispositif se compose de deux flacons sous vide comprenant un milieu de culture (l'un est aérobique, l'autre anaérobique) et d'une tubulure munie d'une aiguille à chaque extrémité. L'une sert à ponctionner la veine, l'autre permet l'écoulement de sang dans les flacons par perforation des bouchons.

Il faut commencer par le prélèvement anaérobique.

L'aérobique est dans le second prélèvement, il est assuré par simple aspiration d'air dans le flacon.

- Pour le prélèvement de **sang capillaire**, différents matériels sont utilisés en fonction de l'examen demandé.
-

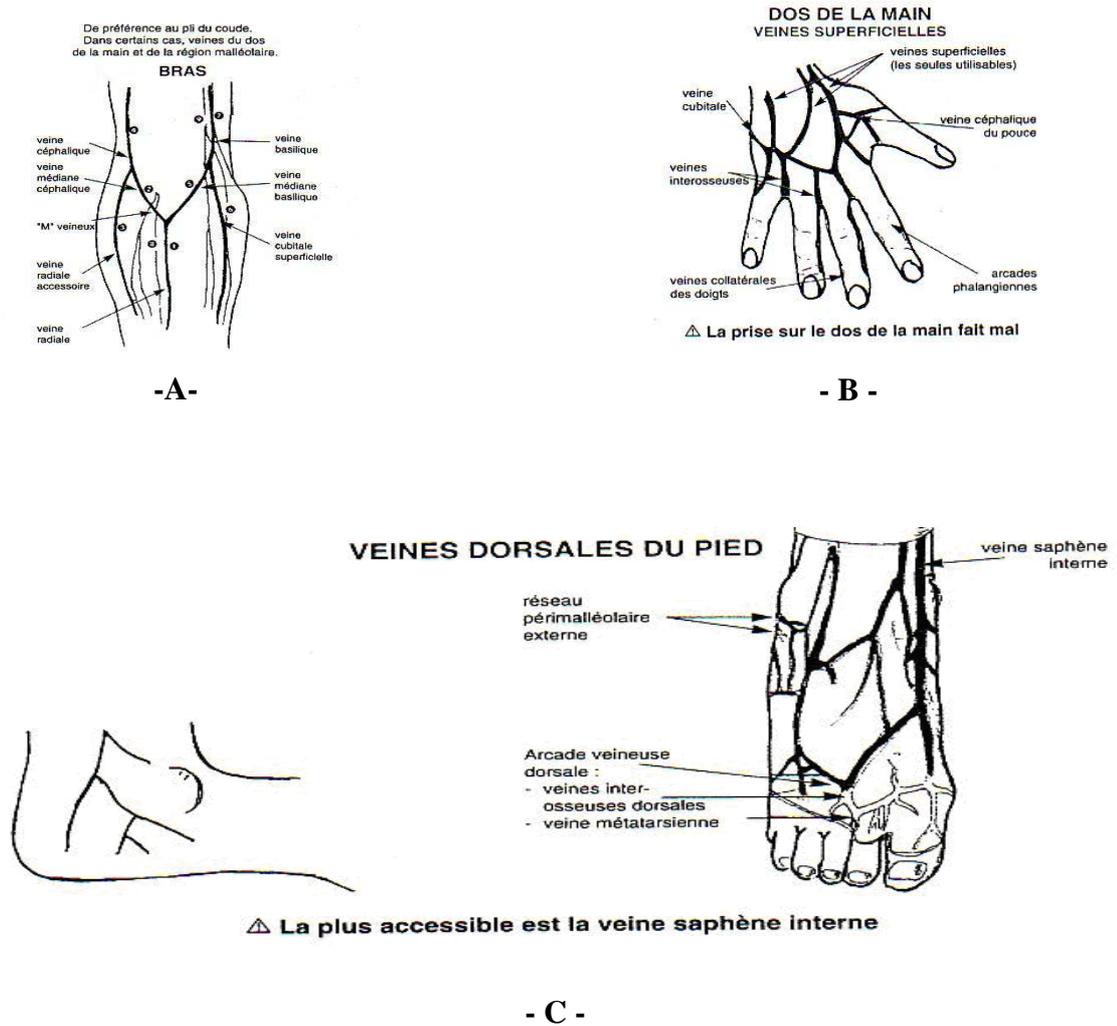
- Pour la **glycémie capillaire**, on utilise soit une auto piqueuse rétractable à usage unique prévenant tout risque de piqûre secondaire, soit un stylo auto piqueur à usage unique.
- Des bandelettes réactivées correspondantes au lecteur de glycémie peuvent être utilisées.
- Pour la **mesure de temps de saignement** (méthode de Ivy) elle est effectuée à l'aide d'un appareil rétractable à usage unique en réalisant une incision calibrée ainsi qu'un chronomètre et du papier filtre. Cette épreuve est réalisée sous pression constante à l'aide d'un tensiomètre.
- Pour la mesure de l'**hématocrite**, une auto piqueuse rétractable à usage unique est utilisée, un tube capillaire, et des compresses stériles
- Le matériel de réanimation (en bon état de marche) nécessaire à la prise en charge d'un patient qui fait un malaise grave (BÉRAUD, 2001).

### **2.1.5.2. Points de ponction**

#### **a. Prélèvement de sang veineux**

Le prélèvement de sang veineux est s'opéré dans plusieurs poings, par exemple :

- \*Au niveau du pli de coude de chaque bras suivant : veine basilique, veine médiane, veine céphalique,
  - \*Au niveau des avant-bras : veine céphalique, au pli de coude,
  - \*Au niveau du dos de chacune des mains : arcade dorsale de la main,
  - \*Au niveau de la fontanelle chez le nourrisson.
-



**Figure 1 : Points de ponction en vue d'un prélèvement de sang veineux (BÉRAUD, 2001).**

### b. Prélèvement de sang capillaire

Ce prélèvement s'effectue au niveau :

- Du bord externe de la dernière phalange d'un des doigts de la main non dominante. Il faut éviter la pulpe de doigt car la piqûre est plus douloureuse ainsi que l'index et le pouce afin de préserver la préhension.
- Du talon de nourrisson,
- Du lobe de l'oreille (utilisé pour la mesure du temps de saignement : ce point de ponction est de moins en moins) (BALEDENT, 2000).

### **2.1.5.3. Technique de prélèvement**

#### **a) Avant la ponction**

Il faut d'abord

- Contrôler l'identité du patient,
- Contrôler la prescription médicale,
- Prendre les renseignements cliniques et/ou thérapeutiques en fonction des examens demandés,
- S'assurer de l'état de jeun du patient, aux pluparts des examens,
- Rassembler le matériel nécessaire,
- Poser le bras sur une protection à usage unique,
- Pratiquer un lavage simple des mains,
- Mettre le bras tendu en position déclive, poing fermé et serré,
- désinfecté les bras par l'alcool,
- Repérer la veine à ponctionner par un examen visuel et par palpation. Pour une veine difficile, il faut masser le bras du patient, du poignet vers le pli du coude ou tapoter le site de ponction avec l'index et le majeur

Il faut éviter de choisir un membre paralysé ou un membre ayant une plaie importante. Ces différentes étapes permettent, outre un soin de qualité, de mettre le patient au repos. En effet, certains paramètres peuvent être influencés par l'activité cellulaire, la contraction musculaire ou le stress (BALEDENT, 2000)

#### **b) Après la ponction**

Finalement il faut :

- Jeter immédiatement le matériel dans le conteneur,
  - Retourner lentement les tubes comportant un anticoagulant,
  - Enlever les gants et les éliminer dans le sac à déchets,
  - Poser un pansement sec sur le point de ponction,
  - Coler les étiquettes sur chaque tube,
  - Remplir la fiche de renseignement destiné au laboratoire,
  - Conditionner les tubes dans les emballages spécifiques en séparant les feuilles des examens
  - Décontaminer le matériel (plateau, tablette, garrot),
  - Se laver les mains avec un savon doux liquide. (ODOU, 2002).
-

## **2.2. Prélèvement par système VACUTAINER®**

### **2.2.1. Définition**

C'est un prélèvement d'une quantité de sang au moyen d'un système clos et stérile. Plusieurs possibilités sont envisagées :

- a) Avec une aiguille,
- b) Avec un set Butterfly® (ailettes),
- c) Avec un raccord Luer® pour un prélèvement sur cathéter (DEOM, 2001)

Le système VACUTAINER® est composé de trois éléments (tableaux 3, 4, 5, 6, 7):

- L'aiguille biseautée avec une soupape de sécurité,
- Le corps,
- Le tube stérile avec un vide défini.

L'aiguille est vissée au corps et l'on pique la veine du patient avec cette unité. Après la ponction on glisse le tube VACUTAINER® dans le corps et on fait pénétrer l'aiguille par mode de pression. La soupape de sécurité se rétracte et le vide bien défini du tube assure une aspiration souple du sang (BECTON, 2007).

Les tubes sont disponibles avec deux types de bouchon:

- Le bouchon conventionnel caoutchouc,
- Le bouchon hémogard®, qui est composé d'un bouchon en caoutchouc recouvert d'une jupe de protection en plastique.

Le bouchon hémogard® est le produit de choix. Les bouchons ergonomiques hémogard® permettent l'ouverture et la fermeture rapide et facile du tube. Sa forme garantit la protection maximale contre des contacts avec le sang (BECTON, 2007).

- La forme ergonomique de la jupe en plastique recouvrant le haut du tube sur près de 2 cm, offre une excellente préhension qui permet de mieux maîtriser le débouchage.
- La configuration de l'élément caoutchouc du bouchon et sa formation chimique ont été développés par ordinateur, de manière à minimiser les adhérences du sang.
- Les éventuelles projections sont captées à l'intérieur du capuchon et le manipulateur est protégé (BECTON, 2007).

### **2.2.2. Avantages de ce système**

L'usage du système VACUTAINER offre les avantages suivants :

- Prise de sang direct dans le tube sans aucun contact avec l'échantillon,
  - Un vaste assortiment de tubes avec volume d'aspiration différents,
  - Classification facile par bouchon de couleurs différentes,
-

- Additifs chimiques strictement standardisés,
- Une qualité constante de l'échantillon, sans la variation dans les paramètres analytiques que l'on observe fréquemment dans les prises de sang avec seringue,
- Le caoutchouc du bouchon protège le sang permet la centrifugation du tube sans risque de formation d'aérosols,
- Manipulation facile et hygiénique de l'échantillon lors du prélèvement et analyse aux laboratoires,
- Prise de l'échantillon d'analyse directement dans le tube (BECTON, 2007).

### **2.2.3. Risques - préventions – précautions**

- En Principe, le garrot ne doit pas rester en place durant la ponction de sang,
- En présence de veines fines ou difficiles, le laisser mais le serrer modérément (contrôle du pouls radial).
- Certains examens de sang doivent être prélevés sans garrot pour éviter les interférences (veines fragiles, faible pression veineuse comme par exemple chez les nourrissons). Il faut choisir si possible une veine palpable, compacte et souple, et un site de ponction éloigné de toute perfusion ou en dessous de la voie veineuse.
- Les ordre de prélèvement des tubes à respecter sont: hémoculture aérobie puis anaérobie, tubes secs, tubes citrates (y compris vitesse de sédimentation), et autres tubes (EDTA, héparine, etc.) (DEOM, 2001).

### **2.2.4. Matériel et étapes de prélèvement par VACUTAINER**

#### **2.2.4.1. Matériels**

Les matériels utilisés sont:

- Désinfectant alcoolique pour les mains du manipulateur,
  - Plateau,
  - Tubes,
  - Étiquettes au nom du patient,
  - Protection pour le lit,
  - Garrot,
  - Gants,
  - Désinfectant alcoolique des matériaux,
  - Compresses (DEOM, 2001).
-

#### **2.2.4.2. Les étapes**

Les étapes d'un prélèvement avec système VACUTAINER® sont différentes de celle du prélèvement par seringue. IL faut donc:

1. Se désinfecter les mains,
2. Préparer le matériel sur le plateau,
3. Visser l'aiguille sur le corps sans ôter l'étui protecteur,
4. Installer le patient en décubitus dorsal,
5. Mettre la protection sous le bras,
6. Repérer le site de prélèvement en posant le garrot,
7. Relâcher et faire serrer le poing du patient plusieurs fois après la pose du garrot,
8. Tapoter légèrement le site de ponction avec l'index et le majeur,
9. Se désinfecter les mains et mettre les gants,
10. Serrer le garrot si besoin,
11. Ôter l'étui protecteur de l'aiguille et piquer,
12. Adapter le tube,
13. Dès que le sang afflue dans le tube, desserrer le garrot,
14. Attendre que le tube se remplisse selon le vide d'air prédéterminé,
15. Retirer le tube en exerçant une contre pression du pouce sur l'une des ailettes du corps,
16. Inverser lentement chaque tube de haut en bas 4 fois (homogénéisation). avant de remplir le tube suivant (pour les tubes avec un anticoagulant),
17. Retirer l'aiguille sans presser sur le point de ponction pendant son retrait,
18. Presser en maintenant une compresse imbibée de désinfectant puis coton sec sur le site de ponction et maintenir le bras vers le haut,
19. Mettre un sparadrap,
20. Étiqueter les tubes et inscrire l'heure du prélèvement sur la feuille de demande d'examen (DEOM, 2001).

#### **2.2.5. Minimiser les facteurs d'influence**

Les effets biologiques inhérents à chaque individu (âge, sexe, population) sont des effets à long terme et sont inclus dans les valeurs de référence accompagnant un résultat.

Pour les autres effets, souvent à court terme, on peut tenir compte des règles suivantes :

- Si possible prélever entre 7 h et 9 h le matin,
  - Prélever 12 h après le dernier repas,
  - Prélever avant les soins ou la prise de médicaments (interférences possibles),
-

- Pour le suivi d'un traitement médicamenteux, prendre en compte les temps de pic sérique et d'établissement d'un état stationnaire,
- Indiquer l'heure de prélèvement,
- Un échantillon prélevé au mauvais moment est sera annulée,
- Un échantillon dont les résultats analytiques arrivent trop tard est un échantillon perdu aussi annulée (VUILLE, 2002).

### **2.2.6. Effets préanalytiques**

Les effets préanalytiques que nous avons vus précédemment concernent avant tout le patient, sans mettre en cause directement le personnel médical. A partir du prélèvement, le personnel médical est par contre directement impliqué (VUILLE, 2002).

#### **a) Position**

Il est bien connu que la position (debout / couché) influence la concentration de plusieurs constituants. Certains mécanismes sont responsables de ces changements, le plus important étant la pression effective de filtration, qui augmente aux extrémités basses (membres). Ce changement induit un transfert d'eau entre le compartiment intracellulaire et le compartiment vasculaire, réduisant le volume plasmatique d'environ 12 %. Les grosses molécules ne passant pas la barrière capillaire (> 4 nm), on observe une concentration de ces molécules ainsi que des petites molécules liées. Les autres changements sont principalement liés au changement de la pression sanguine qui modifie la concentration des composés vasoactifs.

Pour montrer l'effet de la position, on peut prendre l'exemple du calcium, qui existe sous deux formes, libre et liée. La concentration du calcium ionisé (libre) est indépendante de la posture, alors que le calcium total augmente en position debout (5 – 10 %) (VUILLE, 2002).

#### **c) Garrot**

Le garrot est un artifice utilisé pour faciliter la ponction veineuse. Que se passe-t-il si le garrot reste serré pendant le prélèvement ? La pression dans les veines augmente et un mécanisme semblable à celui observé pour le changement de position apparaît : il y'a mouvement d'eau du compartiment sanguin au compartiment interstitiel, entraînant les petites molécules. On observe alors une concentration des grosses molécules et un changement faible des petites. On remarque que la concentration des petites molécules change de moins de 3 %, ce qui est non significatif du point de vue clinique (à part sodium et potassium) (VUILLE, 2002).

---

### 2.2.7. Accessoires de prélèvement sanguin (VACUTAINER®)

#### \* Concept unique du triple biseau

Pénètre le tissu avec une incision qui minimise le traumatisme.

#### Biseau effilé

Minimise l'altération des tissus et la libération de thromboplastine,

Chaque aiguille est conditionnée dans un protecteur rigide tubulaire, muni d'une étiquette bague d'inviolabilité avec numéro de lot et date de péremption (LAKES, 2006).



**Figure 2: Triple biseau**  
(LAKES, 2006)

#### \* Le "manchon" : concept unique

Il réduit le risque de contamination en obturant l'orifice distal de

l'aiguille à chaque changement de tube (LAKES, 2006).

Pas d'influence sur la qualité des prélèvements sanguins, pas de coagulation prématurée, libération moins importante de

thromboplastine. Les cellules sanguines passent dans l'aiguille sans dommage (LAKES, 2006).



**Figure 3: Le manchon**  
(LAKES, 2006)

#### \* Aiguilles a prélèvements multiples à l'usage unique

La paroi Ultra -mince des aiguilles VACUTAINER® permet un débit sanguin accru, grâce à son diamètre interne plus grand (LAKES, 2006). Il existe deux versions :

- **Aiguilles de sécurité QUICKFIT** : avec fixation de type baïonnette
- **Aiguilles standards** : avec fixation à vis



**Figure 4 : le corps VACUTAINER et l'aiguillé** (LAKES, 2006)

### Aiguilles standard

Fixation à vis sur les porte-tubes standard (LAKES, 2006).



**Figure 5: Aiguilles standard (LAKES, 2006)**

**Tableau 4: Aiguilles standard (LAKES, 2006)**

Code couleur	Diamètre gauge	Externe mm	Longueur inch	Aiguille mm
	20 G	0,9	1½"	38
	"	"	1"	25
	21 G	0,8	1½"	38
	"	"	1"	25
	22 G	0,7	1½"	38
	"	"	1"	25

1 gauge = 0,3 inche = 7,62 SWG (Standard Wire Gauge) / 1 mm = 19 SWG

### Aiguille Quick fit à baïonnette

Fixation de type baïonnette sur porte-tubes spécifique Quick fit. Concept d'aiguille et de corps de prélèvement sécuritaire à clips. La simplicité d'utilisation et la rapidité de prélèvement avec le système Quick fit ne modifient pas les habitudes de travail (LAKES, 2006).



**Figure 06 : Aiguille Quick fit à baïonnette (LAKES, 2006)**

**Tableau 5 : Aiguille Quick fit (LAKES, 2006)**

Code couleur	Diamètre gauge	Externe Mm	Longueur inche	Aiguille mm
	20 G	0,9	1½"	38
	"	"	1	25
	21 G	0,8	1½"	38
	"	"	1	25
	22 G	0,7	1½"	38
	"	"	1	25

1 gauge = 0,3 inche = 7,62 SWG (Standard Wire Gauge) / 1 mm = 19 SWG

**\* Corps de prélèvement Quick fit réutilisable**

**Facile d'utilisation**

Éjection d'une seule main .Il suffit d'appuyer simultanément sur les deux clips situés sur les côtés du corps de prélèvement Quick fit pour libérer l'aiguille sans aucun risque de piqûre (LAKES, 2006).

**Tableau 6 : Corps de prélèvement pour flacons hémoculture (LAKES 2006)**

Désignation porte –tubes	Couleur
Corps de prélèvement	Mauve, verts, bleu, orange
Réducteur pour passage de tube	 Mauve

**\* Unités de prélèvements à ailettes**

Kit de prélèvement complet à usage unique prêt à l'emploi composé :

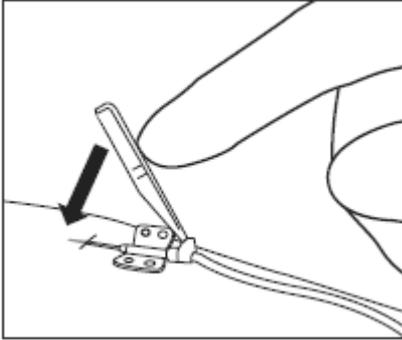
- d'un micro perfuseur à ailettes à paroi mince et biseau court,
- d'un adaptateur loué standard à vis ou QUICKFIT.
- Emballage unitaire sous blister.
- Stérile, apyrogène (LAKES, 2006).



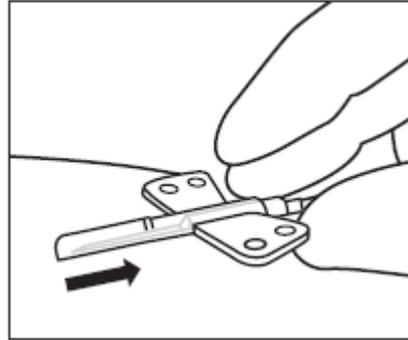
**Figure 7 : Unités de prélèvements à ailettes (LAKES, 2006)**

- **Prévient des risques de piqûres accidentelles pour le préleveur.**
- La protection est activée d'une seule main et se fait dans la continuité du geste.
- L'aiguille est neutralisée dès son retrait de la veine (en temps zéro).
- Un clic sonore permet de s'assurer de la mise en sécurité irréversible du système SURSHIELD.
- Emballage unitaire sous blister.
- Stériles oxyde d'éthylène, apyrogènes. (LAKES, 2006).

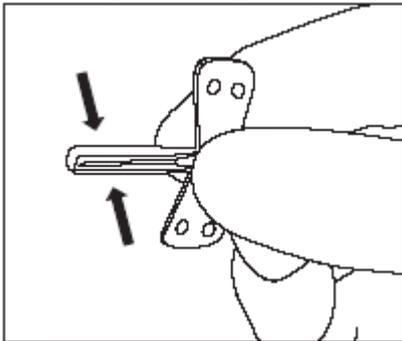
**\* Les étapes de retirer l'aiguille**



Avant de retirer l'aiguille de la veine, placer le protecteur au-dessus de l'aiguille.



Poser l'index sur le protecteur puis effectuer un mouvement rotatif pour positionner le pouce au-dessous des ailettes. Presser jusqu'à l'obtention d'un léger clic sonore.



Retirer l'aiguille de la veine à l'aide du pouce et du majeur positionnés à la base des ailettes

**..Systèmes de prélèvement sanguin sous vide a usage unique**

La méthode plus facile et juste de prélèvement.



**Figure 8 : prélèvement par VACUTAINER (LAKES, 2006)**

**\* Hygiène et sécurité**

- Système **stérile** qui fonctionne en circuit fermé, de la veine au tube, pour minimiser le risque de contamination.

- **Manipulation réduite :**

Les tubes n'ont plus besoin d'être débouchés et rebouchés lors du prélèvement,

- Sous l'effet du vide, le tube se remplit de sang,

- Le vide calibré minimise les risques d'exposition lors de l'ouverture du tube.

- **Traçabilité :** le n° de lot et la date de péremption sont inscrits sur chaque boîte, chaque tube et chaque aiguille (LAKES, 2006).

**Qualité du prélèvement**

- le prélèvement avec VACUTAINER est un geste simple et reproductible pour des résultats fiables.

- Le vide calibré garantit un rapport constant sang/anticoagulant pendant toute la durée de vie des tubes, il permet un remplissage des tubes normalisé et précis.

- Contact direct du sang avec l'anticoagulant (LAKES, 2006).

**Confort du patient**

- Le revêtement silicone et le triple biseau effilé de l'aiguille minimisent l'altération des tissus et réduisent le traumatisme.

- Pas de mouvement de l'aiguille lié à la manipulation d'une seringue.

- Retrait du garrot dès l'arrivée du sang dans le premier tube.

- Prélèvement plus court car le flux sanguin est plus important.

- Quantité de sang prélevée diminuée grâce aux tubes à vide réduit (LAKES, 2006)

---

\* **Tableaux 7 : Tubes en P.ET (polyéthylène – téréphtalate) (LAKES, 2006)**

Les différents tubes avec les différentes couleurs et chaque tube pour un examen spécifiques

Code couleur	Additif	Trait de jauge	Application courante	Durée de vie maximale
 Rouge	Granules séparation et activateur de coagulation	4 ml	Analyses sur sérum	24 mois
 Mauve	Complexons K3 vaporisé	"	Hématologie (numération, formules)	"
 "		2 ml		"
 "		4 ml		"
 Vert	Héparine de lithilium	"	Analyses sut plasma	12 mois
 "	vaporisé	2 ml		"
 Gris	Héparine iodoacétate vaporisée	4 ml	Tests glycémiques	6 mois
 "		2 ml		"
 Bleu	Citrate trisodique tomponnée 3,2 %	4 ml	Tests de coagulation	12 mois
 "		2 ml		"
 Noir			"	Vitesse de sédimentation

Chapitre III :  
Quelques explorations hématologiques

### **3. Quelques examens hématologiques**

#### **3.1. Sérologie**

La sérologie est une partie de l'immunologie, consacrée à l'étude des réactions antigène anticorps (MICHEL, 1996).

C'est un test de détection dans le sérum, des anticorps dirigés contre des antigènes spécifiques ou bien des antigènes dirigés contre des anticorps spécifiques (antigènes viraux, antigènes bactériens et parasitaires...). Cette technique est utilisée pour diagnostiquer des maladies infectieuses. Dans notre étude, nous avons parlé de 3 explorations sérologiques (la vitesse de sédimentation et la protéine C réactive Antistreptolysine O).

##### **3.1.1. Vitesse de sédimentation (VS)**

###### **3.1.1.1. Définition**

La vitesse de sédimentation est le temps nécessaire aux éléments cellulaires sanguins (globules blancs, globules rouges et plaquettes) pour sédimenter, c'est-à-dire tombé librement au bas d'une colonne de sang incapable de coaguler. Elle est exprimée en hauteur de cellules sédimentées, mesurée au bout d'une heure au de deux heures (des techniques plus rapides existent actuellement). C'est un élément d'orientation, concernant le nombre de globules rouges et leur volume, le taux de certaines protéines et la viscosité du sang (ODOU, 2002).

###### **3.1.1.2. Conditions de prélèvement**

Le prélèvement de sang veineux (en général au pli du coude), es effectué dans un tube de prélèvement contenant un anticoagulant. Il est réalisé de préférence à jeun (ODOU, 2002).

La vitesse de sédimentation (VS) des érythrocytes reste encore un test communément utilisé pour déceler et surveiller les maladies s'accompagnant d'un syndrome inflammatoire. En effet, la VS évolue parallèlement aux protéines de la réaction inflammatoire, avec en particulier le fibrinogène. Cependant, la VS peut également être modifiée au cours d'états pathologiques n'impliquant pas un syndrome inflammatoire, mais une anomalie des immunoglobulines (BALEDENT, 2000).

###### **3.1.1.3. Mesure classique**

C'est un examen de laboratoire qui consiste à mesurer la distance parcourue par les hématies quand on les laisse sédimenter dans un tube vertical, pendant un temps donné.

La méthode de référence est la méthode de Westergren (BALEDENT, 2000).

---

- **Matériel**

- Tubes de Westergren : diamètre intérieur 2,50 mm, graduations de 0 à 200 mm (souvent marquées 0 à 20mm),
- Support pour tubes de Westergren, permettant de maintenir le tube vertical.
- Poire, minuteur,
- Anticoagulant = citrate trisodique à 3,8 %. Le citrate doit être conservé au réfrigérateur (BALEDENT, 2000).

- **Méthode** (figure 9)

- Le prélèvement est effectué de préférence le matin à jeun,
- Le sang est recueilli dans un tube avec anticoagulant soit 0,4 ml de solution de citrate + 1,6 ml de sang. Il est important d'agiter doucement le tube, immédiatement après le prélèvement afin de bien mélanger le citrate et le sang.
- Le sang citrate est ensuite aspiré dans un tube de Westergren, jusqu'à la graduation 0 (si possible à l'aide d'une poire ou d'un tube en caoutchouc pour éviter d'avaler du sang),
- Le tube est ensuite fixé au support, bien verticalement.

La base du support doit être horizontale et disposée dans un lieu à l'abri de la chaleur.

- Le tube est laissé ainsi pendant une heure,

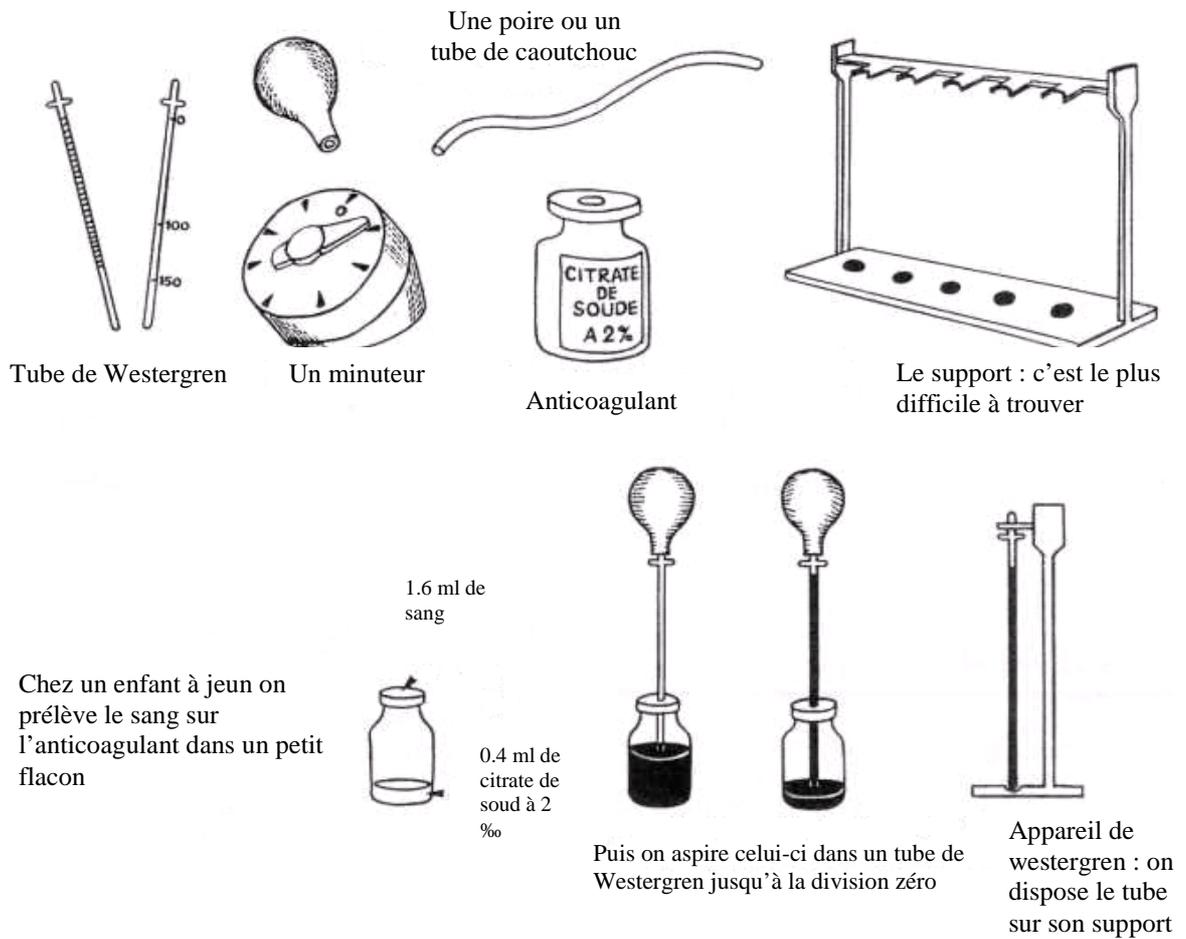
Pendant le temps de sédimentation, il est important d'éviter les chocs et les vibrations (centrifugeuse de pailleuse...).

- Après une heure, noter en millimètres, la hauteur du plasma surnageant, à partir de la graduation zéro (BALEDENT, 2000).

La mesure de la VS peut s'effectuer après une heure, et deux heures de sédimentation.

En pratique, la mesure de la première heure est suffisante. La mesure de la deuxième heure peut cependant permettre de rétablir une erreur de lecture de la première heure. (BALEDENT, 2000).

---



**Figure 9 : Matériel de mesure de la vitesse de sédimentation (BALEDENT, 2000).**

#### 3.1.1.4. Valeurs usuelles

Lecture de la première heure :

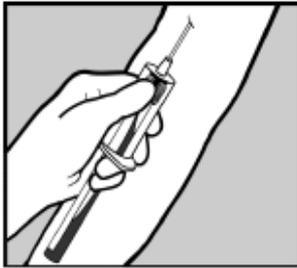
Chez l'homme : 1 à 10 mm (< 16).

Chez la femme : 3 à 14 mm (< 25).

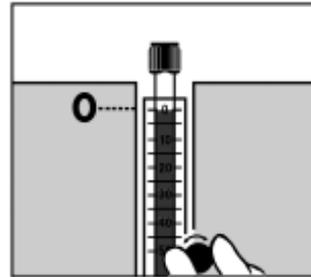
Il existe une augmentation physiologique de la VS avec l'âge et au cours de la grossesse, de même au cours des traitements oestrogestatifs (BALEDENT, 2000).

### 3.1.1.5. Méthode de mesure par système SEDITAINER

SEDITAINER est un matériel utilisé pour le VS dans le système VACUTAINER, motionnée dans les étapes suivant



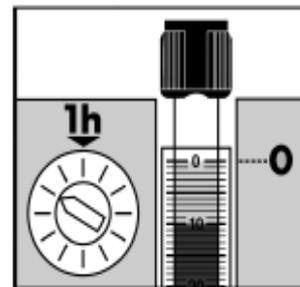
-1- Rassemblez sang, en utilisant ont accepté technique de la ponction veineuse.



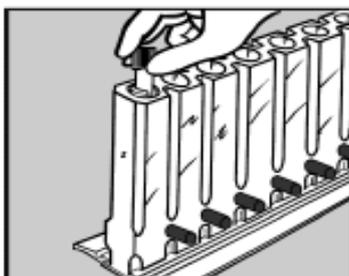
-4- Alignez niveau nul d'échelle pour toucher le fond de ménisque.



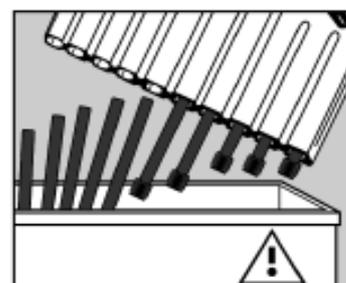
-2- Doucement inversez le sang dans un SEDITAINER tube au moins 8 - 10 fois. Répétez avant d'insérer le tube dans position.



-5-Horloge résolue et niveau érythrocytaire lu après 1 heure.



-3-Encart SEDITAINER tube dans position.



-6- jeter les tubes SEDITAINER sans ouvrir dans la poubelle.

**Figure 10 : Etapes de SEDITAINER (PATTON *et al*, 1989).**

**Tableau 8: Variations pathologiques de la VS** (BALEDENT, 2000)

Augmentation	Diminution
<p><b>Diminution du nombre des globules rouges</b> Anémie profonde → VS = 30 à 40 mm/h.</p> <p><b>Augmentation des certaines protéines sériques</b> -syndrome inflammatoire : (infection, cancers, nécroses tissulaires.....), -hyperstimulation de système immunitaire, -infections bactériennes ou parasitaires, -infection virales (HIV au début).....</p>	<p><b>Augmentation des globules rouges</b> Polyglobulie → VS =0 ou 1.</p> <p><b>Anomalie des globules rouges</b> -hémoglobinopathies anomalies de membrane, -hyperleucocytose importante, -hypogammaglobulinémie (nouveau-né) insuffisance hépatique.</p>

### 3.1.2. Protéine C Réactive (CRP)

#### 3.1.2.1. Définition

La Protéine C Réactive (CRP) est une protéine sérique spécifique les réactions inflammatoire, synthétisée par le foie, précocement au cours de la réponse inflammatoire (BALEDENT, 2000).

La Protéine C Réactive est une  $\beta$  holoprotéine de 105 ou 126KDa (Kilo Dalton), constituée de 5 ou 6 sous unités de 21 KDa. Elle est synthétisée par le foie sous l'activation de la voie normale du complément. Celle des leucocytes et la stimulation de la phagocytose lors des phases aiguës d'inflammation.

La protéine C réactive est dosée préférentiellement par des techniques d'immunoanalyse avec marqueur (enzymes, fluorophore.....) car sa concentration normale est très faible (<10mg/l).

Les techniques d'immunoprécipitation sont satisfaisantes lors de son augmentation (BERAUD, 2001).

#### 3.1.1.2. Conditions de prélèvement

La CRP est le plus souvent dosée à l'aide d'automates, par turbidimétrie ou néphélométrie, permettant une mesure précise du taux sérique.

Les techniques semi quantitatives par agglutination passive sur plaque, utilisent des particules de polystyrène en suspension qui existent dans le tube VACUTAINER.

Présentées sous forme de kits, elles sont d'utilisations très simples mais sont moins sensibles et plus coûteux c'est pour ça le tube VACUTAINER est intéressant dans la CRP.

Il faut également connaître leurs limites (risques de faux négatifs et surtout faux positifs) (BALEDENT, 2000).

### 3.1.1.3. Méthodes de mesure

L'intérêt du dosage de la CRP réside dans les variations rapides de concentrations, de grande amplitude, en parallèle avec le phénomène pathologique responsable de l'inflammation. Elle augmente dès la 6<sup>ème</sup> heure, parvient à un taux maximum vers la 48<sup>ème</sup> heure, et retourne à un taux normal au 6<sup>ème</sup> jour en l'absence de complication (BALEDENT, 2000).

### 3.1.1.4. Valeurs usuelles

Le taux normal est < 6 mg/l.

Ce taux augmente avec la prise d'oestrogènes et l'inhalation de fumée de cigarettes (BALEDENT, 2000).

**Tableau 9: spécificités et cinétique** (SEROUSSI, 2000).

VS	CRP
<p><b>Non spécifique</b></p> <p>La VS dépend de plusieurs phénomènes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-le nombre et la morphologie des hématies,</li> <li>-la concentration en immunoglobulines,</li> <li>-la présence ou non d'un syndrome inflammatoire.</li> </ul> <p><b>Cinétique lente</b></p> <p>Elévation retardée.</p> <p>En pathologie infectieuse, normalisation en deux à dix semaines, fonction du degré d'élévation des immunoglobulines (demi de vie à 21 jours pour les anticoagulants)</p>	<p><b>Spécifique de la réaction inflammatoire</b></p> <p>Synthèse hépatique = réponse précoce.</p> <p><b>Cinétique rapide</b></p> <p>Augmente des 6<sup>ème</sup> heure, taux maximum vers la 48<sup>ème</sup> heure.</p> <p>Retour à un taux normal au 6<sup>ème</sup> jour en l'absence de complication (demi vie=12heures).</p>

### 3.1.3. Antistreptolysine O (ASLO)

#### 3.1.3.1. Définition

Les streptocoques  $\beta$  hémolytiques du groupe A sécrètent une streptolysine O. Cet enzyme induit la formation d'anticorps, les antistreptolysines O ou ASLO. Le dosage des ASLO s'effectue chaque fois qu'une infection est suspecte d'être due à un streptocoque A.

Les infections à Streptocoques du groupe A de champ de Lance (Lance Field) peuvent entraîner des complications tardives telles que : le rhumatisme articulaire aigu, la glomérulonéphrite, l'endocardite bactérienne, la scarlatine, l'érythème noueux. Ces infections donnent lieu à la production d'anticorps, en particulier de type Anti-Streptolysine O (ASLO), le système VACUTAINER évite le risque la contamination par contact avec l'échantillon. Le dosage de ces anticorps permet d'affirmer l'origine Streptococcique des infections précédemment citées (DIJON, 2006).

### **3.1.3.2. Conditions de prélèvement**

Il n'y a pas de conditions spéciales pour ce prélèvement (mais d'autres examens demandés dans le même bilan peuvent exiger des précautions particulières). Il est souvent recommandé d'effectuer un deuxième prélèvement sérologique à 2-3 semaines d'intervalle pour voir l'évolution du taux des anticorps. Le prélèvement de sang veineux, en général au pli du coude (par système VACUTAINER, pour éviter les faux résultats) est réalisé à l'aide d'un garrot, enfin enlevé le plus rapidement possible. Il est préférable d'être à jeun (DIJON, 2006).

### **3.1.3.3. Valeurs normales**

**Résultats normaux :** Chez un patient n'ayant pas fait d'infection à streptocoque A, le titre des ASLO est <200U/ml. (DIJON, 2006)

**Résultats anormaux :** Un titre > 200U/ml indique une infection récente. Si un prélèvement est effectué 15 jours plus tard, l'évolution du taux d'anticorps rend compte de l'ancienneté de l'atteinte (DIJON, 2006):

-L'atteinte est récente si le taux augmente,

-Elle est ancienne si le taux reste constant ou diminue très légèrement.

### **3.1.3.4. Principe de la détection des anticorps anti-streptolysine O (ASLO)**

Le principe repose sur la capacité des ASLO à inhiber l'action de la SLO : C'est une réaction de neutralisation (de la SLO par les ASLO). Finalement la présence d'ASLO sera prouvée par l'inactivité de la streptolysine O alors que l'absence d'ASLO sera montrée par l'activité de la SLO (ODOU, 2002).

#### **• Technique de détection**

La manipulation se déroule en plusieurs étapes. Il sera traité en parallèle le cas d'un sérum positif (présence d'ASLO) et le cas d'un sérum négatif (DIJON, 2006).

---

Titre < 200 U ASLO /ml : non significatif d'une infection streptococcique (pas d'agglutination),

Titre > 200 U ASLO /ml : significatif d'une infection streptococcique (agglutination),

- **Titration des ASLO**

Le titrage permet de confirmer une infection récente par rapport à une infection ancienne.

Pour titrer les ASLO:

- On utilise des dilutions du sérum en tampon ASLO que l'on réalise en microplaque par dilution en série,
- On ajoute dans chaque cupule une quantité connue et fixe de streptolysine. La quantité de SLO est connue de l'expérimentateur grâce aux indications du fabricant et au volume utilisé. Elle est égale au titre de la solution de SLO multiplié par le volume utilisé (ici 50µL pour une concentration de 55 unités SLO par mL) soit 2,75 Unités par cupule (on l'appelle n),
- On ajoute ensuite dans chaque micro tube, une quantité fixe d'érythrocytes pour révéler l'action de la SLO si elle n'est pas neutralisée par une quantité suffisante d'ASLO sérique,
- Lorsque la quantité d'ASLO est supérieure à la quantité de streptolysine, les hématies sont préservées et sédimentent au fond du tube. Lorsque la quantité d'ASLO est inférieure à la quantité de streptolysine, les hématies sont hémolysées et libèrent leur hémoglobine,
- On considère que la plus grande dilution de sérum qui permet de neutraliser la SLO (absence d'hémolyse) contient autant d'ASLO que de SLO. Dans notre expérience il s'agit de la dilution 1/8.

Finalement 50µL de sérum dilué au 1/8 contient 2,75 Unités. Il suffit ensuite de calculer le titre d'ASLO en mL de sérum pur

**Concentration en ASLO = n \* facteur de dilution / volume de sérum = 2,75 \* 8 / 50.10<sup>-3</sup> = 440 Unités /mL**

Le sérum étudié présente une concentration supérieure à 400 Unités ASLO/mL. On parle alors de sérum positif qui révèle une infection récente (JAUNE, 2000).

---

### 3.2. Hémostase

#### 3.2.1. Définition (coagulation de sang)

La coagulation plasmatique est l'ensemble des réactions biologiques conduisant à transformer un liquide (le plasma) en un gel constitué de fibrine. La fibrine provient du clivage enzymatique du fibrinogène par la thrombine, qui est l'enzyme clé de la coagulation (SEBASTIEN, 2006).

#### 3.2.2. Facteurs de coagulation

L'ensemble des facteurs de coagulation intervenaient dans les mécanismes physiologique dont les fonctions de prévenir toutes hémorragies spontanées et de permettre l'arrêt d'un saignement après une rupture circulaire (BELHANI *et al*, 1992).

**Tableau 10 : Facteurs de coagulation et substances apparentées** (SEBASTIEN, 2006).

Numéro et/ou nom	Fonction
I (fibrinogène)	Forme des caillots (fibrine)
II (prothrombine)	Active I, V, VII, XIII, protéine C, plaquettes
III (facteur tissulaire)	co-facteur VIIa
IV	Calcium
V (proaccélélerine, facteur instable)	co-facteur X
VI	non attribué - Facteur Va
VII proconvertine(facteur stable)	Active IX, X
VIII (facteur antihémophile A)	co-facteur IX
IX (facteur Christmas ou facteur antihémophile B)	Active X
X (facteur Stuart-Prower)	Active II
XI (antécédent de la thromboplastine plasmatique)	Active XII, IX and prékallicroïne
XII (facteur Hageman)	Active prékallicroïne et fibrinolyse
XIII (facteur fibrin-stabilizing)	cross links fibrin
Facteur de von Willebrand	lie VIII, intermédiaire de l'adhésion des plaquettes
Prékallicroïne	Active XII et prékallicroïne ; scinde HMWK
high molecular weight kininogènes (HMWK)	soutient l'activation réciproque de XII, XI, et prékallicroïne
Fibronectine	médiateur adhésion cellulaire
antithrombine III	Inhibe IIa, Xa, et autres protéases
heparin cofactor II	inhibe IIa, cofacteur héparine et dermatan sulfate ("antithrombine mineure")
Protéine C	inactive Va et VIIIa
Protéine S	cofacteur protéine C activée (APC, lie la protéine liant le C4b)
Plasminogène	convertit en plasmine, lyse la fibrine et autres protéines
Alpha 2-antiplasmine	Inhibe la plasmine
pro urokinase	Active le plasminogène

Tissu plasminogène activator (TPA)	Active le plasminogène
plasminogène activator inhibitor I (PAI1)	inactive TPA
plasminogène activator inhibitor II (PAI2)	inactive l'urokinase

### 3.2.3. Temps de saignement (TS)

#### 3.2.3.1. Définition

Le temps de saignement est le temps qui s'écoule entre la création d'une blessure et l'arrêt du saignement. Cela permet d'évaluer le temps nécessaire à la formation d'un thrombus plaquettaire, qui sera ensuite consolidé pour former un véritable caillot lors de la coagulation. Ce temps est en relation avec le nombre de plaquettes sanguines. Il permet de dépister un risque hémorragique avant une intervention chirurgicale (ODOU, 2002).

#### 3.2.3.2. Conditions de prélèvement

2 méthodes sont possibles

**a) Technique de Duke:** Après désinfection locale à l'éther, une incision de quelques millimètres, non douloureuse, est réalisée à l'aide d'une petite pointe ("microlance") au lobe de l'oreille. Dès que la première goutte de sang apparaît, un chronomètre est déclenché. Les gouttes de sang sont recueillies toutes les 30 secondes sur un buvard jusqu'à l'arrêt du saignement. Le temps de saignement est ainsi déterminé (ODOU, 2002).

Le temps de saignement est mesuré après mais au niveau du lobe de l'oreille de saignement. Cette méthode doit être abandonnée car elle est peu sensible (GHRASSIA, 1998).

**b) Technique d'Ivy (par incision ou 3 points)**

##### • Méthode de l'Ivy incision

Le brassard d'un tensiomètre est appliqué au bras et la personne effectuant le prélèvement applique une pression déterminée. Ensuite, après désinfection locale à l'éther, 3 petites incisions, non douloureuses, sont réalisées à l'aide d'une "microlance" sur la face antérieure de l'avant-bras. Dès que la première goutte de sang apparaît, un chronomètre est déclenché. Les gouttes de sang sont recueillies toutes les 30 secondes sur un buvard jusqu'à l'arrêt des 3 saignements. Le temps de saignement moyen est ainsi déterminé (ODOU, 2002).

**Tableau 11 : Modification de temps de saignement selon l'âge (GHRASSIA, 1998).**

Paramètre	Adulte	Junior	Nouveau né
Age	> 15 ans	5 mois à 15 ans	Naissance à 4 mois
Pression	40 mm Hg	40 mm Hg	20 mm Hg 1kg 25 mm Hg de 1 à 2kg 30 mm Hg 2kg
Incision	5 mm × 1,0 mm	3,5 mm × 1,0 mm	2,5 mm × 1,0 mm
Résultats normaux	4 à 8 min Recommencer à l'autre bras si 2 < TS < 12 min	1 à 9 min	1 à 2 min

• **Méthode d'Ivy 3 points (Ivy Nelson)**

Le TS est réalisé dans la même rations de l'avant bras que la méthode d'incision, en pratiquement 3 piqûres à l'aide d'une microlance profonde de 2,5 et large de 1,5, on peut aussi mesurer le volume du sang écoulé recueilli à l'aide d'un tube capillaire.

Le volume normal est compris entre 2 et 4 min pour le temps et 60 à 100 µl pour le volume. Chez le nouveau né, le temps de saignement reste de pratique décale, avec la technique d'Ivy microlance, il est conseille de faire seulement deux points, en utilisant une microlance court, en règlent la compression selon le poids de l'enfant : 20 mm de mercure pour un poids inférieur à 1 kg; 25 mm pour un poids compris entre 2 et 3 kg (GHRASSIA, 1998).

### **3.2.3.3. Valeurs normales**

De (2 à 4) minutes par la technique de **Duke** De (3 à 5) minutes par la technique **d'Ivy**

### **3.2.3. Taux de prothrombine (TP), Temps de Quick (TQ) et International Normalized Ratio (INR)**

#### **3.2.4.1. Définition**

Le temps de Quick est le temps nécessaire à la coagulation du plasma traité dans une certaines conditions. Cela permet d'explorer les facteurs de la coagulation dits vitamine K dépendants. Il est possible de convertir ce temps en taux de prothrombine par rapport à un plasma témoin défini à 100 % (ou pourcentage d'activité prothrombique globale), le système VACUTAINER peut interférer dans les résultats de TP. Le résultat peut également être exprimé en INR en rapportant le temps du malade sur celui du témoin (dans des conditions bien définies). Ce dosage est fréquemment utilisé pour la surveillance thérapeutique des patients traités par anti-vitamine K (ODOU, 2002).

#### **3.2.4.2. Conditions de prélèvement**

Explore la voie exogène et la voie commune, il permet de mesuré globalement les facteurs II-V-VII-X. On ajoute à un plasma décalcifié du calcium et de la thromboplastine et on mesure le temps mis par le caillot a apparaître les chiffres habituels sont de 11 à 14 secondes, un écart de deux secondes par rapport au témoin est pathologique (TQ allongé) le TQ est également exprime sous forme pourcentage dans le taux de prothrombine (TP), ce dernier est pathologique en de sous de 70% (BELHANI *et al*, 1992). Prélèvement de sang veineux (en général au pli du coude) sur un tube contenant un anticoagulant. Le prélèvement doit être réalisé en évitant la pose d'un garrot trop prolongée, indiquer s'il y a une prise de médicaments anticoagulants par exemple antivitamine K (AVK), la dose et l'heure de la prise (par rapport à l'heure du prélèvement) (ODOU, 2002).

#### **3.2.4.3. Valeurs normales**

Taux de prothrombine : 70 - 100 % INR = 1. Patient traité par anti-vitamine K : la zone d'efficacité thérapeutique (qu'il faut atteindre et maintenir) est définie par rapport au risque thromboembolique (ODOU, 2002) (Tableau 12) et (Annexe E).

---

**Tableau 12 : variation de TQ et TP et INR (ODOU, 2002)**

<b>Pathologies</b>	<b>Tests</b>	<b>TQ</b>	<b>TP (%)</b>	<b>INR</b>
Prévention des thromboses veineuses		22 - 17	30 – 40	2 - 3
Phlébite ou embolie en évolution		31 - 25	25 – 35	2 - 4
Prévention des thromboses récidivantes		31 - 25	25 – 35	2 - 4
Prévention des thromboses artérielles		37 - 22	20 – 30	3 - 4.5
Prophylaxie opératoire		22 - 17	30 – 40	2 - 3
Patient porteur de prothèse cardiaque		37 - 22	20 – 30	3 - 4.5

### **3.2.5. Fibrinogène**

#### **3.2.5.1. Définition**

Le fibrinogène est une protéine fabriquée par le foie qui est transformée en fibrine lors de la coagulation pour aboutir à la formation d'un caillot. La production de fibrinogène est augmentée dans les états inflammatoires. Il existe des défauts de production du fibrinogène (rares) ; son taux peut également être diminué en cas de défibrination (ODOU, 2002), le système VACUTAINER évite la coagulation du sang par la pénétration des bulles d'air au cours de prélèvement (la coagulation remarquée est une activation naturelle du fibrinogène).

#### **3.2.5.2. Conditions de prélèvement**

Prélèvement de sang veineux en général au pli du coude (par système VACUTAINER), avec le garrot laissé le moins longtemps possible. Le tube de prélèvement contient un anticoagulant. Il n'est pas indispensable d'être à jeun (ODOU, 2002).

#### **3.2.5.3. Valeurs normales**

De (2 à 4) g /l

### **3.2.6. Temps de céphaline kaolin (TCK) et Temps de céphaline activée (TCA)**

#### **3.2.6.1. Définition**

Le TCA et le TCK est le temps de coagulation d'un plasma traité dans des conditions particulières. Il permet d'explorer globalement l'ensemble des facteurs de la coagulation dits de la voie intrinsèque. Un allongement du TCA peut révéler un déficit en un facteur de la coagulation (en particulier les facteurs anti-hémophiliques A et B, respectivement les facteurs VIII et IX), potentiellement responsable d'un risque hémorragique (ODOU, 2002).

### **3.2.6.2. Conditions de prélèvement**

Les chiffres habituels sont de 35 à 45 seconds, un écart de plus de 10 secondes par rapport au témoin est pathologique (TCK allongé) (BELHANI *et al*, 1992).

Prélèvement de sang veineux (en général au pli du coude) sur un tube contenant un anticoagulant. Le prélèvement doit être réalisé en évitant la pose d'un garrot trop prolongée (ODOU, 2002) (se fait par système VACUTAINER pour améliorer les résultats).

Indiquer s'il y a une prise de médicaments anticoagulants : héparine (indiquer le type et la dose) ou anti-vitamine K = AVK (indiquer la dose et l'heure de la prise par rapport à l'heure du prélèvement).

Explore la voie endogène et la voie commune, il permet d'étudier les facteurs XII-XI-X-IX-VIII-V-II et I.

On ajoute à un plasma décalcifié :

- Du kaolin permettant l'activation des facteurs de contact (XIII-XI)
- De la céphaline équivalent de FP3 permettant l'activation du X par le IX et la initier la coagulation,
- Du calcium le temps par le caillot à apparaître (BELHANI *et al*, 1992).

### **3.2.6.3. Valeurs normales**

Résultats exprimés en secondes par rapport au témoin. Les valeurs sont très variables selon la technique utilisée (de l'ordre de 27 à 35 secondes).

Temps du patient < ou = temps du témoin + 6 secondes (ODOU, 2002).

---



**DEUXIEME PARTIE**

**STAGE PRATIQUE**

# Chapitre I : Matériels et méthodes

## **1. Matériels et méthodes**

Notre stage pratique (2mois) a été effectué au niveau de 02 laboratoires :

- Laboratoire médical de Sonatrach, utilisant le système VACUTAINER, pour les travailleurs
- Laboratoire d'analyses médical de secteur sanitaire de Hassi Messaoud, pour les patients hospitalisés aux services de chirurgie, médecine femme et homme, et pédiatrie, ce laboratoire utilise le système classique de prélèvement.

Les résultats sont portés dans des figures (18, 19, 20, 21, 22).

### **1.1. Méthode de travail**

#### **Prélèvement et préparation d'échantillons**

Le prélèvement de sang veineux (en général au pli du coude), est effectuée laissé le garrot moins longtemps possible. Le tube de prélèvement contient un additif ou bien sec (FRANÇOISE, 2002). Avec une centrifugation 10 minutes à 2500 g, conservation du plasma : 8 heures à 20 (5 C°)

Les tubes sont numérotés et portent les noms des patients.

#### **Questionnaire**

Ces travaux sont basés sur des entretiens avec les médecins de chaque service et les laborantins. Egalement, Des questionnaires étaient distribués aux infirmières.

---

1.2. Appareillage



Figure 11: Bain marie



Figure 14: Lames et cure-dents plastiques



Figure 12: Centrifugeuse



Figure 15: Seringue



Figure 13: Chronomètres



Figure 16: tubes et portoirs



Figure 17: Micropipette

### **1.3. Réactif**

Le dosage de chaque élément à besoin des réactifs spécifiques

#### **1- Pour le dosage des ASLO (antistreptolysine O)**

**Réactif 1 (R1) :** Réactif ASLO-LATEX (suspension de particules de polystyrène latex recouvertes de streptolysine).

**Réactif 2 (R2) :** solution de contrôle positive.

**Réactif 3 (R3) :** solution de contrôle négative.

**(BIOLABO, 1999)**

#### **2- Pour le dosage des CRP (protéine C réactive)**

**Réactif 1(R1) :** réactif latex 1×5 ml (suspension de particule de latex de polystyrène sensibilisées avec des IgG anti-CRP dans un tampon, azide de sodium 0,95g/l).

**Réactif 2(R2) :** contrôle positif 1×1ml (sérum humain immunisé, azide de sodium 0,95g/l).

**Réactif 3(R3) :** contrôle négatif 1×1ml (sérum animal, azide de sodium 0,95g/l).

**(BIOCENTRIC, 2003)**

#### **3- Pour le dosage des TP (taux de prothrombine)**

**Réactif 1(R1) :** Thromboplastine (tissu cérébral de lapin).

**Réactif 2(R2) :** Tampon Owren Koller citrate.

**(BIOLABO, 2005)**

#### **4- Pour le dosage des Fibrinogène**

**Réactif 1 (R1) :** thrombine calcique titrée, lyophilisée contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine permettant le dosage du fibrinogène sur le plasma des patients traités par cet anticoagulant.

**Réactif 2(R2) :** tampon Owren-koller, prêt à l'emploi (PH7, 35 environ).

**(DIAGNOSTICA STAGO, 2003)**

#### **5- Pour le dosage des TCK (temps de céphaline kaolin)**

**Réactif 1 (R1) :** céphaline (substitut plaquettaire) préparée selon Bell et Alton (2) à partir de tissu cérébral de lapin, lyophilisée.

**Réactif 2 (R2) :** activateur, suspension tamponnée de kaolin à 5 mg/ml, flacon de 2 ml ou de 5 ml.

---

## **1.4. Méthodes**

### **1.4.1. Modes opératoires**

Dans tous les examens il faut utiliser des sérums frais et centrifuger (10 minutes à 2500g) mais au certain dosage (TP, TCK, fibrinogène) il faut aussi l'incuber pendant une période précise à température ambiante.

- **ASLO (antistreptolysine O) CRP (protéine C réactive)**

L'observation d'agglutinats dans l'anneau échantillon révèle un taux de protéine C-réactive dans le sérum à une concentration supérieure ou égale à 6mg/l pour CRP, et un taux d'anticorps antistriptolysine-O supérieur ou égal à 200µl/ml.

- **TP (taux de prothrombine), Fibrinogène, TCK (temps de céphaline kaolin)**

Les résultats sont lus directement sur les tableaux joints à chaque coffret.

### **1.4.2. Dosages**

#### **1.4.2.1. Dosages d'ASLO (antistreptolysine O)**

##### **- Principe**

La réaction d'agglutination est positive pour des sérums présentant des taux d'anticorps anti streptolysine-O compris entre 200ul/ml et 3500ul/ml.

#### **1.4.2.2. Dosages de CRP (protéine C réactive)**

##### **- Principe**

Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène anticorps (CRP- IgG anti-CRP). La réaction d'agglutination est positive pour des sérums présentant des taux protéine C-réactive dans le sérum à une concentration supérieure ou égale à 6mg/l.

#### **1.4.2.3. Dosages de TP (taux de prothrombine)**

##### **- Principe**

Cette technique est basée sur les travaux de Quick *et Al.*

On détermine le temps de coagulation à 37°C en présence de thromboplastine tissulaire et de calcium. Le TQ (temps de quick) ainsi mesuré pourra être converti en TP (taux de prothrombine) ou en INR (international normalise ratio).

##### **- Préparation des échantillons**

Pour le dosage de TP, il faut suivre les étapes mentionnées dans le tableau 13.

---

**Tableau 13 : dosage de TP (au bain-marie avec un crochet)**

Plasma :	0,1ml
Incuber 2 minutes à 37°C.	
Thromboplastine incubée au moins 1 minutes à 37°C	0,2 ml
Déclencher le chronomètre simultanément et noter le temps de coagulation.	

**1.4.2.4. Dosages de Fibrinogène****- Principe**

En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma, dilué dans des proportions adéquates, est directement fonction du taux de fibrinogène plasmatique.

**- Préparation des échantillons**

Pour le dosage de fibrinogène, il faut suivre les étapes mentionnées dans le tableau 14.

**Tableau 14 : dosage de fibrinogène (au bain-marie avec un crochet)**

Dans un tube à hémolyse à 37 ° C :	
• Dilution du plasma (étalon, patient ou contrôle)....	0,2 ml
• Incuber à 37 ° C pendant .....	2 mn
• En déclenchant un chronomètre, ajouter le réactif 1 préincubé à 37 °C	0,2 ml
Plonger régulièrement le crochet au milieu du tube jusqu'à apparition d'un mince filament de fibrine. Noter le temps de coagulation (secondes)	

**1.4.2.5. Dosages de TCK (temps de céphaline kaolin)****- Principe**

Correspondant le temps de recalcification plasmatique en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et de kaolin (activation standardisée du facteur XII). On explore ainsi la voie intrinsèque de la coagulation (facteur XII, XI, IX, VIII, X, V, II et I) à l'exception des plaquettes.

**- Préparation des échantillons**

Pour le dosage de TCK, il faut suivre les étapes mentionnées dans le tableau 15.

**Tableau 15 : dosage de TCK (au bain-marie avec un crochet)**

Dans un tube à hémolyse à 37 ° C :	
• Plasma pur (témoin, patient, ou contrôle) .....	0,1 ml
• Réactif 1 homogénéisé avant pipetage .....	0,1 ml
• Mélanger, incubé exactement .....	3 mn
• En déclenchant un chronomètre, ajouter le CaCl <sub>2</sub> 0,025 M préincubé à 37 °C.....	0,1 ml
Mélanger. Noter le temps de coagulation (secondes).	

# Chapitre II : Résultats et discussions

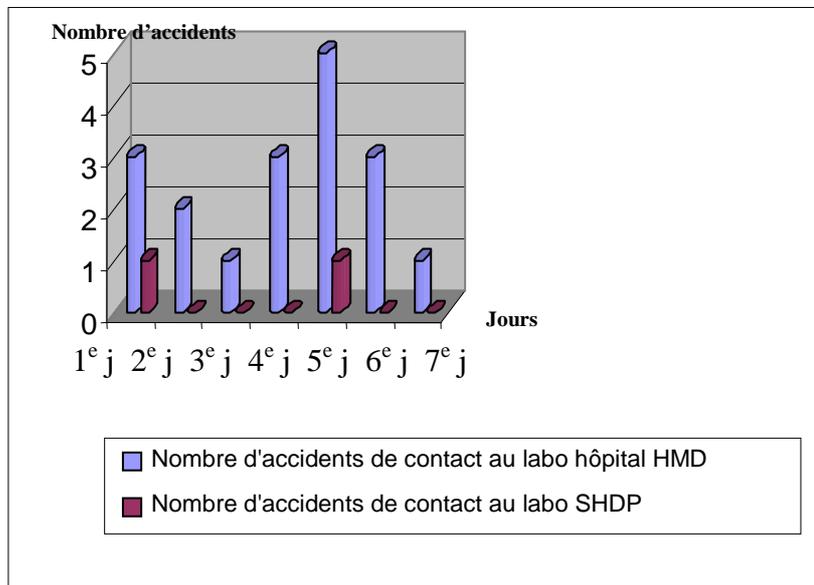
## 2. Prélèvement du sang

Le laboratoire médical de Sonatrach utilise un système de prélèvement, dit système VACUTAINER. Le laboratoire d'hôpital de Hassi Messaoud utilise la méthode de prélèvement par seringue. Pour définir la différence entre les deux méthodes, on suggère les points suivants :

- Contact avec l'échantillon,
- Volume d'aspiration et de coagulation,
- Variation dans les paramètres analytiques (la morphologie des cellules, nombre,...),
- La centrifugation du tube et la formation des caillots.

### 2.1. Le contact avec l'échantillon

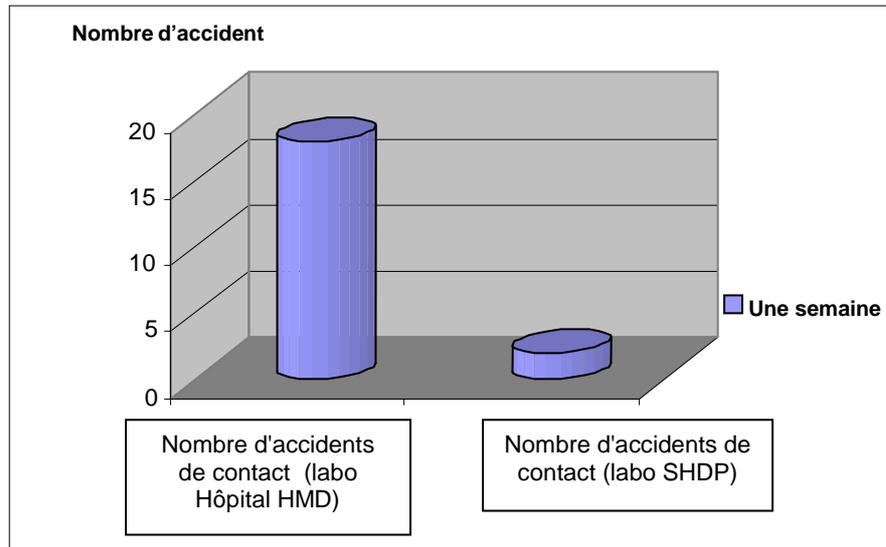
La comparaison entre les deux techniques par seringue et par VACUTAINER au contact avec l'échantillon caractérisait par des accidents infectieux : les piqûres par l'aiguille, et la transmission possible de maladies vers le préleveur. Sur 200 patients ayant effectué des prélèvements par seringue et par système VACUTAINER. Les résultats sont représentées sur la Figure18.



**Figure 18 : Nombre d'accidents par jour**

Nombre d'accidents par système classique supérieur de nombre d'accidents par système VACUTAINER (les accidents par exemple : les tubes cassés, piqueurs, boire le sang...).

En effet sur sept jours, les accidents étaient quotidiens au laboratoire de l'hôpital. Par contre, au niveau du labo SHDP, nous n'avons noté que 02 accidents, survenus au 1ere et 5eme jours.



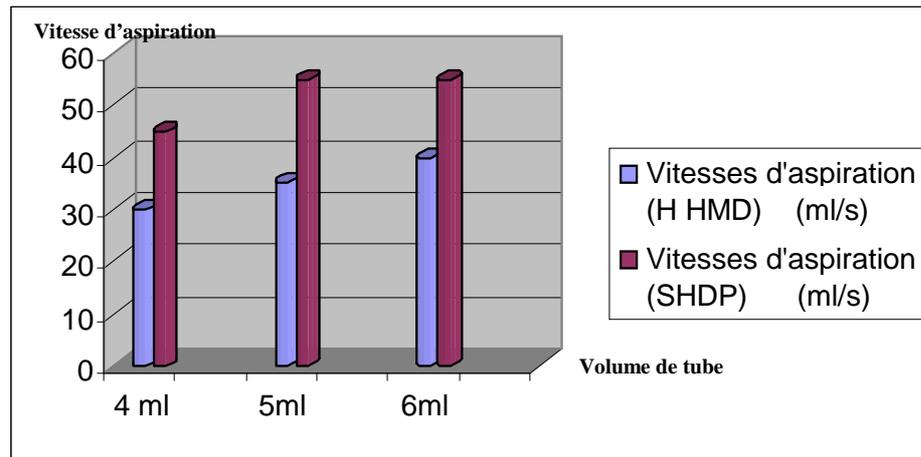
**Figure 19 : Nombre d'accidents par semaine**

Le prélèvement par seringue au laboratoire de l'hôpital de H. Messaoud à causé des risques accidentels aux préleveurs par rapport au système VACUTAINER. (Figure 19). En effet, nous avons dénombré une vingtaine d'accidents en une semaine, contre 3 seulement par système VACUTAINER.

Chaque tube VACUTAINER est muni d'une paroi protectrice en silicone, et la technique sous vide de tube et le caoutchouc participe strictement à éviter le contact du sang avec les mains (BECTON, 2007).

## 2.2. Volume d'aspiration et la coagulation

Chaque tube se caractérise par un volume et un temps de remplissage déterminés. A cet effet, la coagulation du sang dépend de la rapidité du préleveur au cours du prélèvement d'une part, et de la technique utilisée d'autres part. Sur 200 patients ayant recours au prélèvement par système VACUTAINER et 200 par seringue, en une semaine, la vitesse d'aspiration est représentée dans la Figure 20.



**Figure 20 : Variation de la vitesse d'aspiration selon le volume du tube**

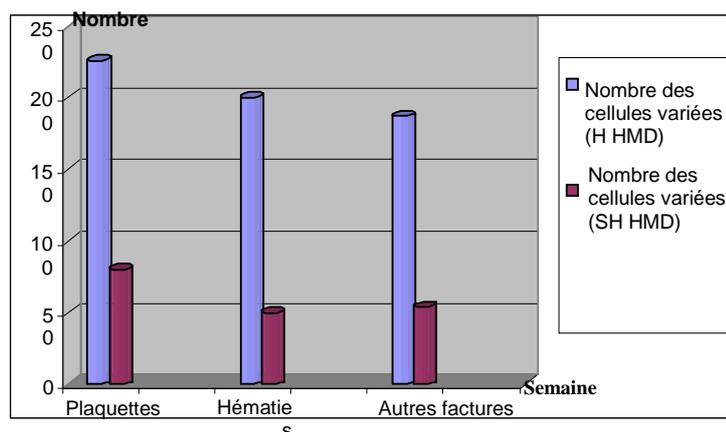
La vitesse d'aspiration du sang vers les tubes chez le laboratoire qui utilise le système VACUTAINER est supérieur de l'autre qui utilise le système classique.

L'aspiration du sang par système VACUTAINER est automatique, grâce au sous vide existant dans le tube, donc rapidement; mais l'aspiration par seringue est manuelle, et donc plus lente (Figure 20).

### 2.3. Variation dans les paramètres analytiques

Elle concerne, le nombre et la forme des cellules.

Entre les deux techniques il y a toujours des erreurs marquées dans l'analyse des paramètres sanguins (composants du sang). A titre d'exemple les hématies éclatées, vont libérer l'hémoglobine, celle-ci fait varier le bilan d'ASLO. La figure 21 montre les variations à partir de 200 patients ayant fait un prélèvement par SV et 200 par seringue, au cours d'une semaine.



**Figure 21 : Variations analytiques**

On constate que les nombre de composants sanguins ayant subi des variations par SV est de 46 pour les hématies, 65 pour les plaquettes et 48 pour les autres facteurs.

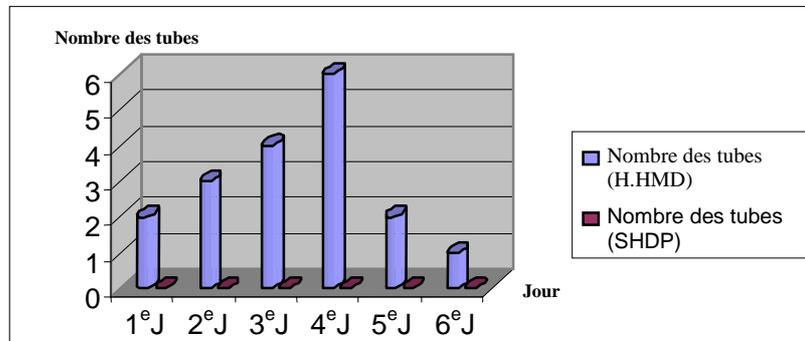
Cependant les variations sont plus importantes à partir du prélèvement par seringue. Ainsi, on dénombre 180 hématies, 220 plaquettes, et 177 autres facteurs.

L'aspiration manuelle du sang par la seringue fait écraser les cellules sanguines, et modifie leur forme. Au contraire, lors qu'on utilise les tubes VACUTAINER, les risques diminuent.

#### 2.4. La centrifugation du tube et la formation de caillot

Les tubes préanalytiques, doivent être centrifugés avant le test. Les résultats montrent qu'il y a une différence entre les tubes VACUTAINER et les autres tubes (Figure 22).

En effet, la variation est relativement importante à partir du prélèvement par seringue. Tandis que par système VACUTAINER, on ne dénombre aucune variation dans les tubes centrifugés.



**Figure 22: Variation de la centrifugation**

Plusieurs facteurs participent dans la centrifugation stricte du sang dans le tube. Les tubes VACUTAINER évitent la mauvaise centrifugation par rapport aux autres tubes. Des particules de silicate sont vaporisées sur la paroi interne, fonctionnant comme activateurs de la coagulation. Trente minutes après le prélèvement du sang, la coagulation est terminée.

Le gel en polyester se positionne pendant la centrifugation comme une barrière de diffusion entre le surnageant (sérum, plasma) et le sédiment (le sang concentré) (BECTON, 2007).

Généralement, le système VACUTAINER Est présenté par plusieurs éléments qu'est n'existe pas chez les autres systèmes, ses éléments améliorent les résultats analytiques et éliminent : Contact avec l'échantillon, vitesse d'aspiration lente, la coagulation du sang, variation dans les paramètres analytiques (la morphologie des cellules, nombre,...), mauvaise centrifugation des tubes et la formation des caillots.

# Conclusion générale

## Conclusion générale

A travers cette étude, nous avons noté que les techniques hématologiques sont très sensibles aux conditions de prélèvements. Ainsi, le système VACUTAINER présente une influence positive sur les examens sérologiques et hémostatiques (VS, CRP, ASLO, TCK, TP, TQ). Il contribue à la diminution des erreurs et à la fiabilité des résultats.

Le système VACUTAINER est un prélèvement de sang veineux, avec un système de protection intégré. Il présente divers avantages:

- 1.** Pas de coagulation prématurée et libération moins importante de thromboplastine qui intervient dans la cascade de coagulation
- 2.** Sécurité de prélèvement : particulièrement sur les veines délicates. Par ailleurs, les cellules sanguines passent dans l'aiguille sans dommage donc sans variation sur les résultats des ASLO.
- 3.** Améliore la qualité de l'échantillon et par conséquent la fiabilité de l'analyse, standardise le processus et assure une reproductibilité dans la technique de prélèvement, dans le cas de VS, le système classique utilise les tubes WESTERGRENE à usage multiples, contrairement aux tubes SEDITAINER à usage unique.
- 4.** diminution des risques accidentels au cours des prélèvements.
- 5.** facilité de manipulation et l'analyse au laboratoire.

Il serait intéressant de généraliser ce système à tous les laboratoires des secteurs sanitaires étant donné la fiabilité des résultats et les risques minimales au cours des prélèvements.

---

# Références bibliographiques et électroniques

## Références bibliographiques et électroniques

### • AUTEURS

1. **AMAR JM, 1992-** La chirurgie. Edition paris, pp 100- 130.
  2. **BALEDENT F, 2000-** Développement et Santé, Biologiste, hôpital Delafontaine, Saint-Denis. Ed France, pp 115-230.
  3. **BECTON D, 2007-** Becton Deckison VACUTAINER. Ed Alger, pp 1-32.
  4. **BELHANI M, DORA B, BELABES S, BOUZIDE K, SMAIL F, 1992-** Hématologie. 2ème édition, Université d'Alger, pp 275-279.
  5. **BÉRAUD J, 2001-** Les technique d'analyse biologique (guide théorique et pratique).Ed Paris, pp 289-2004.
  6. **BERG B, 1985-** Considérations dans les dimensions du taux de la sédimentation, Clin Labo Forum paris pp220-223.
  7. **BURG PH, 2003-** Chimie thérapeutique. Ed Etat Unis, pp 40-60.
  8. **CALAS D, PERRIN P, VANNEST M, 1997-** précis en biologie. Ed Paris, p 30.
  9. **CLAIX M, 2005-** Prélèvement de sang. Ed paris, pp 200-210.
  10. **DIJON F, 2006-** Biologie humaine. Ed France, pp 510-554.
  11. **DEOM P, 2001-** Système VACUTAINER. Ed London, pp 05-31.
  12. **GHRASSIA JC, 1998-** Échantillon biologique (phase preanalytique et prélèvement en biologie médicale). Ed France, 200p.
  13. **LAKES F, 2007-** Le prélèvement. Ed Paris, pp 143-163.
  14. **LOUESLATI EA, DAGHFOUS F, 2004-** Pharmacologie de héparine. Ed Paris, pp 27-90.
  15. **MARSTEIN S, KORNELIUSSEN R, SEDITAINER B, MALING AV-** Seditainer méthodes. Ed London, pp15-20.
  16. **MICHEL RP, 1996-** Immunologie, Merceille. Ed Paris, p 259.
  17. **PATTON WN, MEYER PJ, STUAR T J- J CLIN PATHOL, 1989-** Évaluation de méthode de l'extraction à vide scellée (Seditainer) pour mesure de taux de la sédimentation érythrocytaire. Ed London, pp 10-25.
  18. **PIRO S, 2006-** Coagulation sanguine, labo hémato. Ed France, 24 mars, pp 50-90.
  19. **ODOU FM, 2002-** Analyse médicale. Ed France, pp 335-401.
  20. **SEROUSSI H, 2000-** Intérêt médical du couple VS/CRP. Ed London, pp 300-310.
  21. **VUILLE I, 2002-** Pharmacologie. Ed Canada, pp 240-307.
-

- **Electronique**

- [www.bd.com](http://www.bd.com), 12/2006
- [www.bd.com/france](http://www.bd.com/france), 03/2007
- [www.kellysearch.com](http://www.kellysearch.com), 02/12/2006.
- [bioland@bioland.com.tr](mailto:bioland@bioland.com.tr), 20/04/2007
- <http://www.3dchem.com/motm.asp>, 14/02/2007
- [http://webpublic.ac-dijon.fr/pedago/stl\\_bjb/biohum/bhaslo.htm](http://webpublic.ac-dijon.fr/pedago/stl_bjb/biohum/bhaslo.htm), 14/02/2007

- **Autres**

- **Dictionnaire Encarta**, Ed 2004.
  - **Encarta**, Ed 2004.
  - **Biomagrabe**, 2004, Ed fiches techniques.
  - **Diagnostic stago, Francis 2003**. Fiche technique.
  - **Biocentrique**, version V1.1, fiche technique.
  - **Biolabo, 1999**. Version 20.7 1999, France, fiche technique.
-

# Annexes

**Annexe A : Nombre d'accident par jour**

	1 <sup>er</sup> j	2 <sup>eme</sup> j	3 <sup>eme</sup> j	4 <sup>eme</sup> j	5 <sup>eme</sup> j	6 <sup>eme</sup> j	7 <sup>eme</sup> j	Totale
Nombre d'accident de contacte labo hôpital HMD	3	2	1	3	5	3	1	18
Nombre d'accident de contacte labo SHDP	1	0	0	0	1	0	0	2

**Annexe B : La variation de la vitesse d'aspiration selon le volume de tube**

	4 ml	5ml	6ml
vitesse d'aspiration (H HMD) (ml/second)	30	35	40
vitesse d'aspiration (SHDP) (ml/second)	45	55	55

**Annexe C : Nombre des cellules variées**

	Hématies	Plaquette	Autres factures
Nombre des cellules variées (H HMD)	200	226	187
Nombre des cellules variées (SHDP)	50	80	54

**Annexe D : Les tubes mal centrifugés par jour**

	1 <sup>er</sup> j	2 <sup>eme</sup> j	3 <sup>eme</sup> j	4 <sup>eme</sup> j	5 <sup>eme</sup> j	6 <sup>eme</sup> j
Nombre tube mal centrifugé (H HMD)	2	3	4	6	2	1
Nombre tube mal centrifugé (SHDP)	0	0	0	0	0	0

## Annexe E : TQ, TP, INR

Biolabo reagents

BIO-TP						LOT	No 060524A	
ISI = 1.72								
SECTION 1						SECTION 2		
ETALONNAGE DU LOT / CALAIBRATION OF THIS BATCH						%		
TQ						TP	TM/TT AT/NT	INR
11.0	11.5	12.0	12.5	13.0	13.5	100.0	1.00	1.0
11.6	12.1	12.6	13.1	13.7	14.2	90.0	1.05	1.1
12.1	12.7	13.2	13.8	14.3	14.9	81.8	1.10	1.2
12.7	13.2	13.8	14.4	15.0	15.5	75.0	1.15	1.3
13.2	13.8	14.4	15.0	15.6	16.2	69.2	1.20	1.4
13.2	13.8	14.4	15.0	15.6	16.2	64.2	1.25	1.5
13.8	14.4	15.0	15.6	16.3	16.9	60.0	1.30	1.6
14.3	15.0	15.6	16.3	16.9	17.6	56.2	1.35	1.7
14.9	15.5	16.2	16.9	17.6	18.2	52.9	1.40	1.8
15.4	16.1	16.8	17.5	18.2	18.9	50.0	1.45	1.9
16.0	16.7	17.4	18.1	18.9	19.6	47.3	1.50	2.0
16.5	17.3	18.0	18.8	19.5	20.3	45.0	1.55	2.1
17.1	17.8	18.6	19.4	20.2	20.9	24.8	1.60	2.2
17.6	18.4	19.2	20.0	20.8	21.6	40.9	1.65	2.4
18.2	19.0	19.8	20.6	21.5	22.3	39.1	1.70	2.5
18.7	19.6	20.4	21.3	22.1	32.0	37.5	1.75	2.6
19.8	20.7	21.6	22.5	23.4	24.3	36.0	1.80	2.7
20.4	21.3	22.2	23.1	24.1	25.0	34.6	1.85	2.9
20.9	21.9	22.8	23.8	24.7	25.7	33.3	1.90	3.0
21.5	22.4	23.4	24.4	25.4	26.3	32.1	1.95	3.2
22.0	23.0	24.0	25.0	26.0	27.0	31.0	2.00	3.3
22.6	23.6	24.6	25.6	26.7	27.7	30.0	2.05	3.4
23.1	24.2	25.2	26.3	27.3	28.4	29.0	2.10	3.6
23.7	24.7	25.8	26.9	28.0	26.0	28.1	2.15	3.7
24.2	25.3	26.4	27.5	28.6	29.7	27.2	2.20	3.9
24.8	25.9	27.0	28.1	29.3	30.4	26.4	2.25	4.0
25.3	26.5	27.6	28.8	29.9	31.3	25.7	2.30	4.2
25.9	27.0	28.2	29.4	30.6	31.7	25.0	2.35	4.3
26.4	27.6	28.8	30.0	31.2	32.4	24.3	2.40	4.5
27.0	28.2	29.4	30.6	31.9	31.1	23.7	2.45	4.7
27.5	28.8	30.0	31.3	32.5	33.8	23.0	2.50	4.8
28.1	29.3	30.6	31.9	33.2	34.4	22.5	2.55	5.0
28.6	29.9	31.2	32.5	33.8	35.1	21.9	2.60	5.2
29.2	30.5	31.8	33.1	34.5	35.8	21.4	2.65	5.3
29.7	31.1	32.4	33.8	35.1	36.5	20.9	2.70	5.5
30.3	31.6	33.0	34.4	35.8	37.1	20.4	2.75	5.7
30.8	32.2	33.6	35.0	36.4	37.8	20.0	2.80	5.9
31.4	32.8	34.2	35.6	37.1	38.5	19.5	2.85	6.1
31.9	33.4	34.8	36.3	37.7	39.2	19.1	2.90	6.2

32.5	33.9	35.4	36.9	38.4	39.8	18.7	2.95	6.4
33.0	34.5	36.0	37.5	39.0	40.5	18.3	3.00	6.6
34.1	35.7	37.2	38.8	40.3	41.9	17.6	3.10	7.0
35.2	36.8	38.4	40.0	41.6	43.2	17.0	3.20	7.4
36.3	38.0	39.6	41.3	42.9	44.6	16.3	3.30	7.8
37.4	39.1	40.8	42.5	44.2	45.9	15.8	3.40	8.2
38.5	40.3	42.0	43.8	45.5	47.3	15.2	3.50	8.6

ISI=International Sensitivity Index

TM/TT=Temps Malade/Temps Témoin

TQ= Temps de quick

TP= Taux de prothrombine

INR=International Normalized Ratio

AT/NT=Assayed Time/Normal Time

\*Valeur moyenne des résultats obtenus sur un pool de plasmas normaux locaux.

Mean value of pooled normal samples, measured in the laboratory.

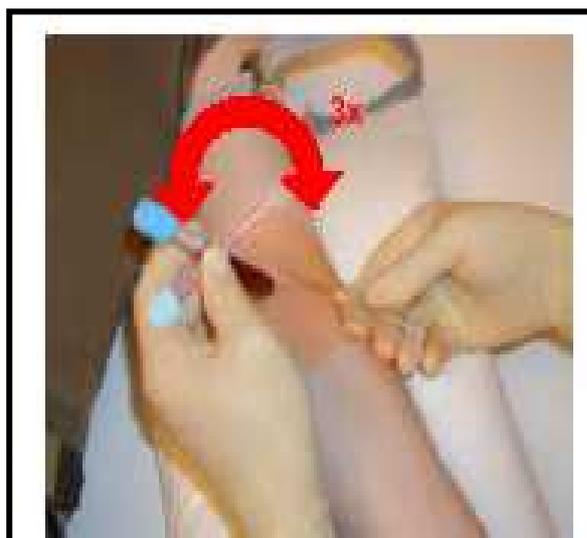
(11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5).

Résultats des patients: dans la colonne choisie, le TP et L'INR sont indiqués en face du temps du patient

Résultats of assayed samples: referring to the corresponding column, PT and INR are facing the coagulation time of patient.



- 1 -



- 4 -



- 2 -



- 5 -



- 3 -

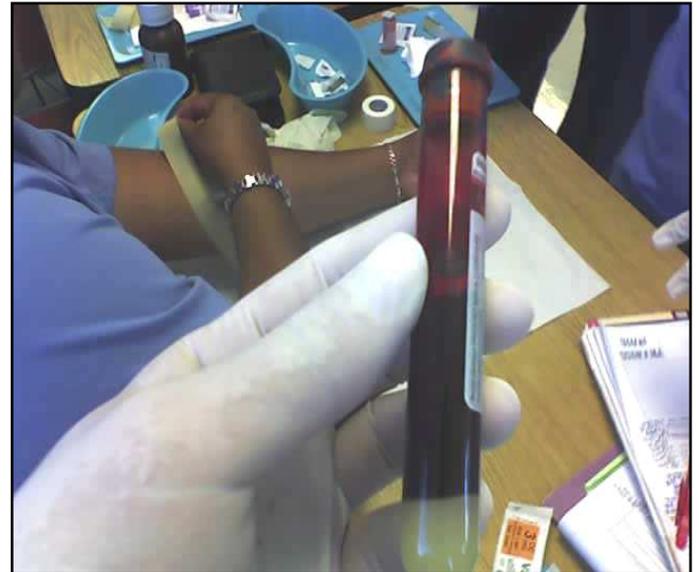


- 6 -

**Annexe F : Des étapes de prélèvement par VACUTAINER**



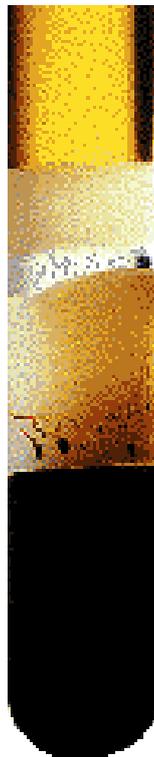
**Annexe G: Matériel de prélèvement**



**Annexe H : Prélèvement par VACUTAINER**

Séparation cellulaire et transport

Pour séparation de cellule du mononucléaire de sang entier



Plasma



Bande du lymphocyte et monocyte



Inclinaison du densité fluide



Barrière du gel

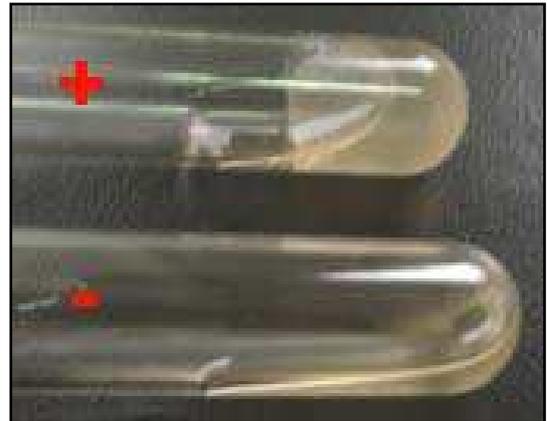


Érythrocytes et neutrophiles

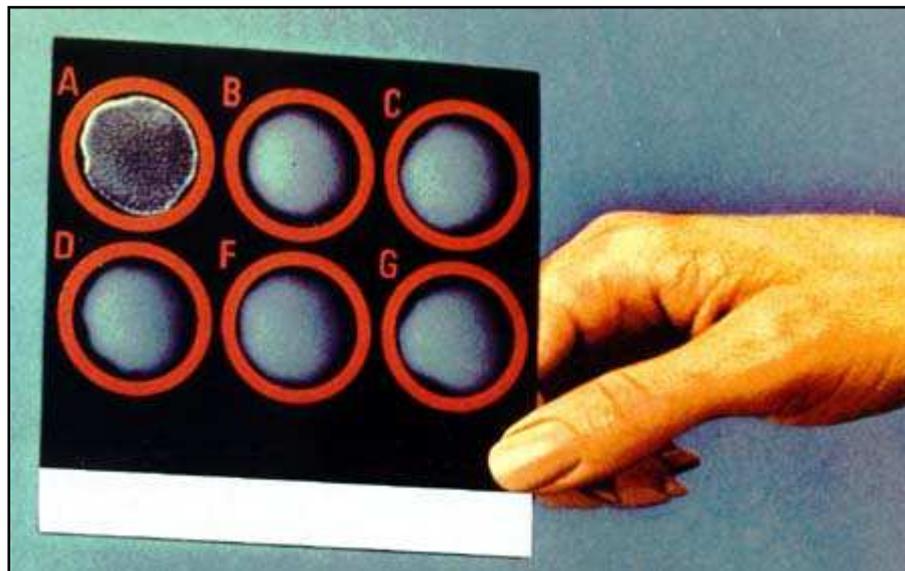
**Annexe I : Un tube après la centrifugation (www.BD.com)**



**Annexe J : Portoirs de déliutions des ASLO et CRP**



**Annexe K : Résultat de coagulation (TP, TCK, fibrinogène)**



**Annexe L: Résultat de détection de CRP et ASLO sur latex (le A est positif, et les autres négatifs)**

## ملخص الدراسة

دراستنا تركز على تقنيات التحاليل الدموية عن طريق نظام VACUTAINER من أجل ذلك اخترنا المخبر الطبي بسوناطراك.

على إثر هذا استخرجنا إيجابيات هذا النظام التي تؤثر على التحاليل الدموية (علم الأمصال، وقف النزيف) مقارنة مع التقنية الكلاسيكية.

الدراسات العلمية بينت أن مبدأ هذا النظام له عدة تأثيرات على التحاليل البيولوجية وصحة نتائجها خلاصة هذه الدراسة تؤكد أنه للحصول على نتائج جيدة مرضية يستوجب توفر أجهزة وأدوات أكثر فعالية.

**الكلمات الدالة:** الدم، سرعة الترسب، نظام VACUTAINER، علم الأمصال، وقف النزيف، علم الدم.

## Résumé

La présente étude est basée sur les techniques d'analyses hématologiques à partir de prélèvement par système VACUTAINER, au niveau du laboratoire médical de Sonatrach.

En effet, nous avons mis en valeur les avantages de ce système sur certaines analyses hématologiques (sérologie, hémostase), par rapport au système classique.

Les études pratiques nous confirment que le principe de ce système, présente une efficacité sur les tests biologiques comparativement aux prélèvements classiques.

**Mots clés :** Sang, vitesse de sédimentation, système VACUTAINER, sérologie, hémostase, hématologie.

## Summary

The present survey is based on the techniques of hematological analyses from withdrawal by VACUTAINER system, to the level of the medical laboratory of Sonatrach.

Indeed, we enhanced the advantages of this system on some hematological analyses (serology, hemostasis), in relation to the classic system.

The studies practice confirm us that the principle of himself system, present an efficiency on the biologic tests compared to the classic tests.

**Keywords:** Blood, sediment speed VACUTAINER system, serology, hemostasis, hematology.