

PLAN

Remerciements

Introduction

I - Objectifs du stage.

II - Description du lieu de stage.

A- Situation géographique.

B- Présentation du laboratoire.

C- Les différentes sections du laboratoire.

III- Présentation des matériels.

IV- Déroulement des activités au laboratoire.

A- Phase pré-analytique.

B- Phase analytique.

a) Hématologie

b) Parasitologie

c) Biochimie

d) Sérologie

e) Immunohématologie

C- Phase post-analytique.

V- Connaissances acquises

VI- Appréciations et suggestions

CONCLUSION

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord les autorités de HECM pour l'opportunité de découverte qui nous a été offerte. Nous remercions également le Dr SOGLO A. Jean Claude directeur de la clinique médicale SEDEKON qui a bien voulu accepté notre lettre de demande de stage. Nos sincères remerciements à Mr SOGLO Wilfrid, responsable du laboratoire de la clinique, et à tout le personnel du laboratoire pour l'accueil et les enseignements dont nous avons bénéficiés au cours de notre stage. Nous souhaitons également remercier nos camarades stagiaires, académiques comme professionnels pour leur collaboration.

Introduction

La Haute École de Commerce et de Management (HECM) envoie à la fin de chaque année académique ses étudiants sur divers lieux de stage selon le choix et les filières de ceux-ci pour approfondir leurs connaissances théoriques par des connaissances pratiques. C'est dans ce cadre que nous, étudiants en Analyses Biomédicales (ABM) au département de Génie de la Biologie Humaine (GBH), avons été envoyés, du 19 juillet au 30 août 2024, au laboratoire d'analyses biomédicales de la clinique SEDEKON. Compte tenu des nouvelles connaissances acquises au cours de ces semaines, nous vous présenterons notre rapport qui comptera en détails les grandes lignes du plan.

I-Objectifs du stage

L'objectif du stage est de capter la méthodologie de travail des biologistes de ce milieu, poser des questions pour plus d'approfondissement de la théorie reçue au cours, maintenant expérimenter afin d'avoir la maîtrise en prélèvement, et en réalisation d'un bon certains nombres d'examens médicaux avant la reprise des cours et d'approfondir les connaissances afin de mieux servir plus tard.

II-Description du lieu du stage

A- Situation géographique

La Clinique medicale SEDEKON est situé dans le département de l'Atlantique, dans la commune d'Abomey Calavi plus précisément sur la voie menant vers la maison du General Mathieu KEREKOU a droite après le troisième feu tricolore. La Clinique medicale SEDEKON est composée de plusieurs section dont nous avons:

- Administration
- Dispensaire
- Cardiologie
- Neurologie
- Laboratoire d'analyse biomédicale
- Pharmacie
- Radiologie
- Ophtamologie
- Kinesithérapie
- Salle d'urgence

B- Présentation du laboratoire

Le laboratoire d'analyses biomédicales de La clinique SEDEKON est situé au sein bâtiment A à côté la salle de garde. Il est dirigé par Mr. SOGLO Wilfrid, qui en sa qualité de responsable, coordonne les activités pour la bonne marche du laboratoire en collaboration avec ses collègues.

Le laboratoire d'analyses biomédicales de la clinique SEDEKON dispose de :

- ☐ Une salle de prélèvement
- ☐ Une salle de manipulation renfermant les sections immunohématologie, bacterio-parasitologie, biochimie et de sérologie
- ☐ Une salle de garde
- ☐ Des toilettes

C- Les différentes sections du laboratoire

Le laboratoire de la Clinique SEDEKON est composé de plusieurs sections dont nous avons :

- Hématologie
- Sérologie
- Bactériologie
- Biochimie
- Parasitologie
- Immunohématologie

III-Présentation du matériels

Le laboratoire dispose entre autres d'un certains nombres d'appareils pour les examens à savoir :

- Les micropipettes (10ul,100ul,1000ul)
- Deux microscopes optiques (Olympus)
- Deux réfrigérateurs qui conservent les différents réactifs et échantillons
- Stérilisateur
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre (Mindray BA-88A)
- Un appareil à ionogramme
- Une automate (Mindray BC-10)
- Mini vidas
- Finecare

IV- Déroulement des activités au laboratoire

Pendant le stage nous avons pu observer et nous exercer sur plusieurs paillasse du laboratoire. Nous avons aussi découvert une véritable équipe de travail et les responsabilités qui

incombent à chacun. Nous présentons ci-dessous les différents domaines que nous avons explorés.

A- Phase pré analytique

1)Description

Les analyses faites au laboratoires sont prescrites par un médecin. Elle commence par l'accueil du patient. Ainsi on prélève le patient avec soin et attention ensuite le prélèvement sur un portoir le tout envoyé au laboratoire pour les manipulations.

Il y a 05 types de tubes possibles identifiables par la couleur de leurs bouchons pour réaliser les examens selon le mode opératoire donné. Chaque type de prélèvement se fait en fonction de l'examen demandé par le médecin. La couleur de chaque tube est normalisée. En France la norme qui a été retenue est la norme américaine.

Pour chaque tube il y a des caractéristiques différentes :

- Le tube EDTA: servant à réaliser les examens tels que la Numération formule sanguine, la vitesse de sédimentation erythrocytaire, la GE+DP, Groupage sanguin et facteur rhésus.
- Le tube sec: utiliser pour la sérologie: Ions, ASLO,SDW,VDRL...
- Le tube fluoré: utiliser pour le dosage de la glycémie.
- La boîte stérile: servant pour l'ECBU.

2)Technique de prélèvement

Prélèvement sanguin par ponction veineuse

Pour faire un tel prélèvement il faut :

- Mettre sa blouse ;
- laver les mains ;
- Mettre les gants ;
- Lire et enregistrer le bon d'analyse du patient pour savoir quel tube prendre ;
- Identifier les tubes ;
- Préparer psychologiquement le patient tout en préparant le matériel (aiguilles, coton imbibé d'alcool à 90°, garrot) ;

- Placez le garrot à 10 cm au-dessus du lieu de ponction et dire au patient de serrer son poing et tendre le bras ;
- Repérer une veine et nettoyer la zone de ponction avec du coton imbibé d'alcool à 90° ;
- Fixer la veine en tendant la peau avec le pouce ;
- Introduire l'aiguille, déjà adapté au corps vacutainer ou au tube simple, sous un angle compris entre 30°, le biseau tourné vers le haut ;
- Détacher le garrot dès que le sang s'écoule dans le tube et après obtention du volume de sang voulu, dire au patient d'ouvrir son poing ;
- un tampon de coton sec propre puis retirer délicatement l'aiguille de la veine ;
- Homogénéiser le contenu du tube s'il le faut ;
- Dire au patient de bien comprimer le lieu de ponction ;
- Jeter l'aiguille, jeter les gants ;
- un pansement ;
- Dire au patient l'heure du retrait des résultats d'examens
- Faire un lavage simple des mains.

NB : En cas d'hématome il faut retirer immédiatement l'aiguille et mettre un tampon imbibé d'alcool à la partie. **Hématome** c'est

l'éclatement de la veine et la répartition du sang sous la peau après ponction.

3)Autres prélèvements

Ces prélèvements sont effectués par le patient lui-même et apportés au laboratoire puis enregistrer. Le laboratoire fournit les flacons ou tubes au patient pour la réalisation des prélèvements tels que les selles, d'urine, de crachats. Le technicien de laboratoire se doit d'expliquer au patient la technique ou la méthode adéquate de recueillement du spécimen afin de s'assurer du bon résultat après manipulation.

B-Phase analytique.

a)Hématologie

En hématologie les examens réalisés au sein du laboratoire sont: la Numération de Formule Sanguin (NFS) qui se réalise grâce à l'automate d'hématologie Mindray BC-10. Cet examen permet de

connaître le taux d'Hémoglobine (Hb) Nombre de globules Blancs (NB), Hématocrite (Hte), Nombre de globules Rouges (NR), Volume Globulaire Moyen (VGM), Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) et la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH). La formule leucocytaire est reprise pour chaque patient afin de déterminé réellement la valeur absolue de neutrophiles (PN), de basophiles (PB), d'éosinophiles (PE), de lymphocytes (L) monocytes (M) et calculer pour une meilleure interprétation.

✓ **Procédure de réalisation de la NFS avec l'automate.**

Mode d'utilisation

Avant tout allumage, toujours vérifier le niveau des réactifs de dilution : Cell Pack et Stromatolyser et procéder à leur remplacement si nécessaire.

- 1) Brancher et mettre l'appareil sous tension ; bouton interrupteur allumage.
- 2) Attendre le processus de nettoyage-autorinçage et l'affichage à l'écran du " mode prêt".
- 3) Bien Homogénéiser les échantillons NFS prélevés sur anticoagulant EDTA.

4) Faire aspirer l'échantillon en y introduisant la sonde et appuyer sur le bouton "start".

Après un temps d'analyses, s'affichea l'écranles résultats de la Numération Formule Sanguine.

Automate



NB: Des maintenances périodique de un (01), deux (02); trois (03) mois sont programmées. Elles sont demandées de façon automatique par l'appareil. Exécuter la procédure en suivant les indications de l'appareil. Elle varient en fonction du type de maintenance.

✓ **La procédure si le nombre de globules blancs est demandé**

On compte généralement entre 4 000 et 10 000 globules blanc/mm³.

Leur augmentation peut être le signe d'une infection bactérienne, une inflammation, ou encore d'une allergie.

Leur diminution peut traduire une infection virale, une toxicité médicamenteuse, ou encore un déficit immunitaire.

b)Parasitologie

Les analyses de cette section visent à prélever un échantillon (selle, sang etc.) et à rechercher les agents pathogènes par un examen direct. Ces examens sont :

✓ **Dans le sang**

* GE/DP: Goutte Epaisse / Densité Parasitaire + Frottis sanguin.

Nous avons ici, la goutte épaisse (GE) qui permet de détecter la présence des parasites pouvant causer le paludisme.

La réalisation du frottis et de la goutte épaisse pour cet examen requièrent un nombre important d'étapes.

Confection du frottis sanguin

- Mettre une goutte de sang sur la lame à côté de la goutte épaisse.
- Mettre en contact de la goutte du sang une lamelle de façon à faire un angle d'environ 45° degré avec le plan de la lame qui porte la goutte du sang.
- Etaler la goutte de sang le long de la lamelle.
- Lorsque la goutte du sang s'étale le long de la lamelle, faire glisser la lamelle vers la partie basale de la lame en conservant toujours la même inclinaison en un coup.
- Laisser le sécher.
- Fixer au méthanol.
- Colorer la lame au GIEMSA dilué à 1/10.
- Laisser la coloration pendant 15 minutes puis rincer.

-Passer à la lecture au microscope entre lame et lamelle avec un objectif 100X

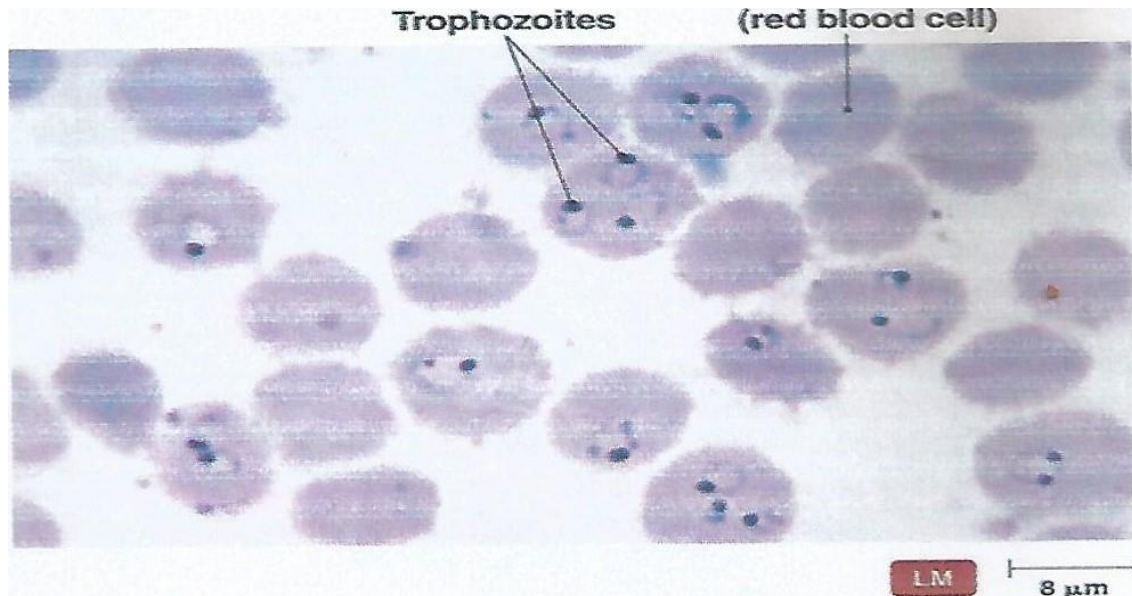
Microscope optique



Confection de la goutte épaisse

- Déposer une goutte de sang sur une lame.
- A l'aide d'une lamelle, écraser cette goutte en faisant des cercles concentriques dans un même sens et de diamètres 1cm d'environ.
- Laisser sécher.
- Déshémoglobiner la goutte épaisse dans l'eau.
- Colorer la lame au GIEMSA en le diluant de 1/10.
- Après 15 minutes rincer et laisser sécher.
- Passer à l'observation.
- Observer à l'objectif 100X avec de l'huile à immersion.

Erythrocyte



DETERMINATION DE LA DENSITE PARASITAIRE

- Compter dans chaque champ microscopique, les parasites en même temps que les leucocytes. Le nombre de leucocytes à compter varie entre 200 et 500 selon les cas suivants : après avoir compté 200 leucocytes, si le nombre de parasites comptés est supérieur ou égal à 100, la lecture s'arrête et on calcule la densité parasitaire, par contre à 200 leucocytes, si

le nombre de parasites comptés est inférieur à 100 il faut continuer jusqu'à 500 leucocytes avant de calculer la densité parasitaires ; si un trophozoïte n'est retrouvé:

- Il faut parcourir 100 champs microscopiques sur la lame de GE avant de la déclarer negative;
- Inscrire le résultat obtenu dans le cahier de paillasse,
- Calculer la densité parasitaire selon la formule ci-après :

$$\text{Densité parasitaire(DP)} = \frac{\text{Nombre de Parasites comptés}}{\text{Nombre de GB comptes}} \times 6000^*$$

Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'ECBU, examen cyto bactériologique des urines, permet de faire le diagnostic d'infection__urinaire et celui de pyélonéphrite. Une infection urinaire se définit par la présence de pus formés de globules_blancs altérés, dans les urines. L'ECBU demeure l'examen de référence des urines permettant d'isoler le germe mis en cause et d'étudier l'antibiogramme

Condition de prélèvement

- Arrêt de toutes antibiothérapies trois semaines à l'avance
- Utiliser une poche d'urine stérile ou Uri col (chez les enfants)
- Conserver l'urine trois heures dans la vessie
- Désinfecter le méat
- Prélever du milieu de la miction.

Observation au microscope

Une goutte d'urine est examinée directement au microscope afin de rechercher la présence de globules blancs, de globules rouges et de microbes. Les urines sont normalement stériles et ne contiennent pas de pus ni de bactéries. Les urines doivent être fraîchement émises. Les urines normales et stériles contiennent :
Leucocytes (globules blancs) : inférieurs à 10.000 /ml,

Hématies : Inférieures à 5.000 /ml absence de germe.

c) Biochimie

La biochimie étudie les processus chimiques et les substances présentes dans l'organisme vivant, permettant de diagnostiquer les maladies à travers l'analyse des liquides biologiques tels que le sang et l'urine. Les divers examens réalisés dans cette section sont entre autres la glycémie à jeun, l'HbA1c, l'urémie, la magnésémie, la calcémie, le cholestérol (total, HDL, LDL), la créatinémie, l'urémie, la transaminase (ALAT, ASAT), la protidémie, la bilirubine (total, direct), l'ionogramme.

Spectrophotomètre



▪ **La glycémie (méthode point final)**

La glycémie permet de déterminer le taux de glucose dans le sang, à partir du plasma recueilli sur celui-ci.

Procédure d'analyse au spectrophotomètre

- Disposer l'échantillon à manipuler et les réactifs à utiliser.
- Disposer des tubes à hémolyse : un tube pour le blanc réactif, un tube pour le réactif + étalon , un tube pour le réactif + control et un autre tube pour le réactif + l'échantillon.
- Déposer dans chaque tube, 1000 µl du réactif puis ajouter dans le second tube 10µl d'étalon et dans le troisième tube 10µl de l'échantillon.
- Après avoir homogénéisé les mélanges et incubé pendant 10min, passer respectivement chaque tube au spectrophotomètre pour le calibrer, l'étalonner et le standardiser.
- Passer l'échantillon au spectrophotomètre et lire le résultat.

Valeur normal : (0,70 – 1,05 g/L)

d) Sérologie

La sérologie étudie les sérums sanguins, en particulier la réponse immunitaire du corps face à diverses infections. Elle consiste à détecter et à mesurer les anticorps dans le sang, qui sont produits par le système immunitaire en réponse à des agents infectieux tels que les virus et les bactéries. Les analyses qui y sont couramment faits sont entre autres la CRP, le SDW, HCV, ASLO, AgHbs, TPHA et l'HIV.

▪ Test de la CRP

Le dosage de la CRP est un test régulièrement utilisé pour détecter la présence ou non d'une infection ou une inflammation. Il est réalisé sur le sang du patient précisément sur le sérum.

Matériel

- Plaque à fond noir
- Réactif test CRP latex
- Sérum du patient

Technique

Ce test est réalisé sur plaque à fond noir.

- Déposer 25µl du plasma du patient sur plaque à fond noir.
- Ajouter 25µl du réactif.
- Mélanger puis tourner pendant 2min et observer le résultat.

Observation	Interprétation
Présence d'agglutination	Test positif
Absence d'agglutination	Test négatif

e)Immunohématologie

Le groupage : le groupage peut se fait en tube comme sur une plaque d'opaline.

Technique de realization

- Prélever le patient dans un tube **EDTA**.
- Centrifuger 5000tours en 2minutes
- Nettoyer la plaque d'opaline.
- Dégraisser la plaque avec de l'alcool.

- Déposer à partir de l'extrémité gauche de la plaque à l'aide d'une pipette pasteur **trois (3) petites gouttes** du culot du patient.
- Déposer horizontalement **quatre (4) gouttes** bien séparées du sérum du patient.
- Ajouter une dernière goutte du culot globulaire du patient à l'extrémité droite de la plaque.
- Ajouter respectivement sur la première, deuxième et troisième goutte de culot le **sérum test anti- A, B, AB** puis ajouter respectivement à la quatrième , cinquième, sixième et septième goutte **l'hématies test B, A, O** et l'hématie du patient.
- Ajouter à la huitième goutte le **sérum test anti- D** qui permet de déterminer le facteur rhésus.
- Mélanger à l'aide du fond d'un tube et chalouper la plaque.
- Faire la lecture en cherchant la présence ou non d'agglutination, qui traduit la présence ou non d'antigènes et d'anticorps.

LECTURE DES RESULTATS

Pour les deux méthodes, la présence d'antigène ou d'anticorps se traduit par la présence d'une agglutination. L'absence d'anticorps ou d'antigène correspondant se traduit par l'absence d'agglutination.

	Sérum- tests			Hématies- tests			Auto	Rhésus (anti-D)	
	Anti A	Anti B	Anti AB	B	A	O		Agglutination	Pas Agglutination
Groupe A	+	-	+	+	-	-	-	Résultat Positif (+)	Résultat Négatif (-)
Groupe B	-	+	+	-	+	-	-		
Groupe AB	+	+	+	-	-	-	-		
Groupe O	-	-	-	+	+	-	-		

NB:

(+): Agglutination.

(-): Pas agglutination.

C- Phase post analytique

Au cours de cette phase, les résultats sont vérifiés, signés, cachetés par le chef laboratoire et enregistrés dans les registres avant d'être rendu aux patients.

V- Connaissances acquises

Au cours de ce stage nous avons acquis plusieurs compétences comme :

- *L'accueil.
- *Prélèvement.
- *Confection du frottis sanguins.
- *Technique de confection de goutte épaisse.
- *Réalisation de certains examens comme la détermination du groupage sanguin, la NFS, AgHBs, HIV.
- *La connaissance du mode de fonctionnement de façon spécifique de certains appareils de laboratoire.
- *La mise au point au microscope.

VI- Appréciations et suggestions

Ce stage que nous avons eu l'immense plaisir et une totale détermination de suivre à la Clinique medicale SEDEKON , nous a permis de découvrir le milieu de travail professionnelle dans les services des hôpitaux en particulier au laboratoire.

Comme suggestions, il faudrait plus d'espace dans la salle d'analyses, que l'on fournisse à temps au laboratoire les réactifs et matériels de protection qui lui seront nécessaires pour jouer pleinement son rôle. Aussi il faudrait que l'hôpital soit doté d'ampérage pour le groupe électrogène qui permettra d'assurer au moins le service minimum lors des coupures électriques.

CONCLUSION

Au terme de ce stage académique au laboratoire de la Clinique médicale de SEDEKON , les connaissances que nous avons acquises de façon théoriques se sont renforcées grâce à la collaboration de tout le personnel exerçant au sein du laboratoire. Nous avons relevé malgré la bonne qualité des équipements mis à la disposition du laboratoire quelques insuffisances comme l'espace lieu de manipulation , rallonge, des gants de protection qu'il serait judicieux de corriger pour permettre aux personnels du laboratoire d'offrir des prestations de très bonne qualité.