

HEMATOLOGIE

1 But de la manipulation

- Ø Détermination de la valeur de l'hématocrite.
- Ø Numération des globules rouges et blancs contenus dans 1mm³ de sang.

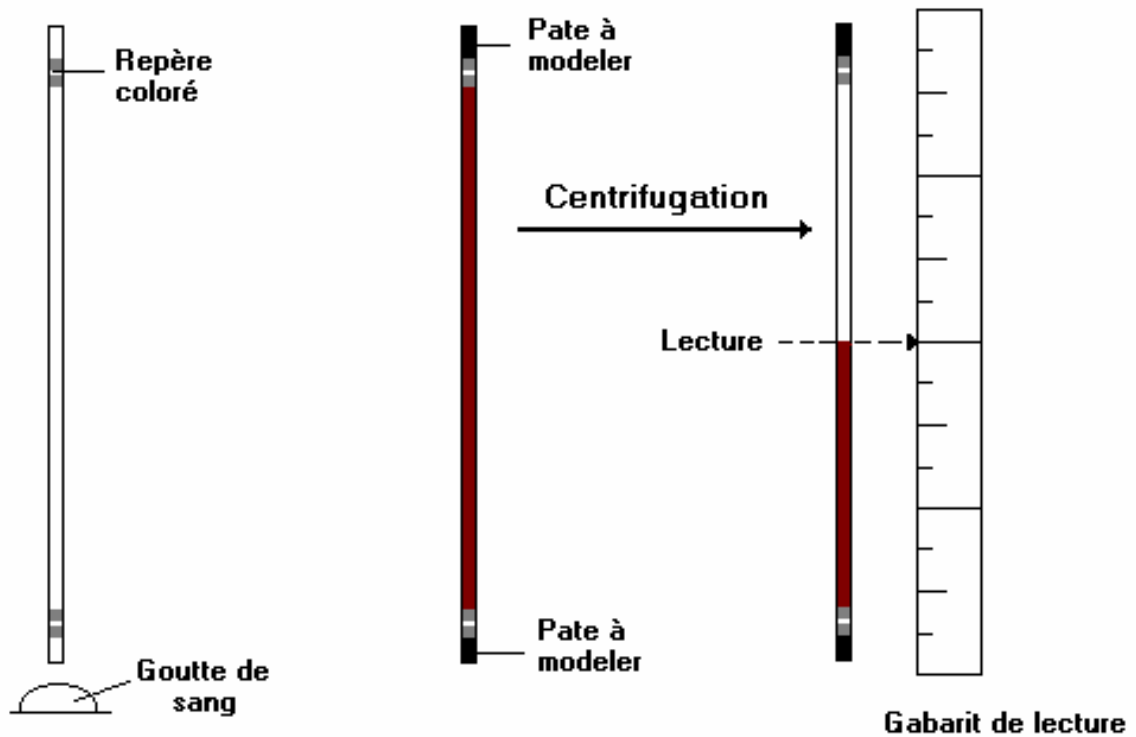
2 Principe

- L'hématocrite est déterminé par centrifugation d'une quantité précise de sang (tubes à hématocrites calibrés); on exprime le rapport masse cellulaire / plasma par lecture directe sur le tube (le résultat est exprimé en %).
- Le principe de la numération sanguine est basé sur la dilution du sang et le comptage des cellules : 1 mm³ de sang est dilué 100 fois grâce à une solution de HAYEM pour les hématies et 10 fois pour les globules blancs en utilisant la solution de LAZARUS. Le comptage est réalisé sous microscope en utilisant une cellule de numération dotée d'une cuvette microscopique de 1 mm³ de volume et dont le fond est quadrillé en carrés.

3 Mesure de l'hématocrite.

Utiliser les tubes capillaires de type micro-hématocrite, ils comportent deux repères colorés (figure 1). Plonger l'une des extrémités dans le sang rendu incoagulable, le sang monte par capillarité. Ajuster exactement les niveaux aux repères colorés et boucher les extrémités à l'aide de pâte à modeler. Mettre le tube dans la centrifugeuse pendant 10 minutes. Lire le niveau atteint par le culot : utiliser pour cela le gabarit de lecture en faisant coïncider les repères du tube avec ceux du gabarit.

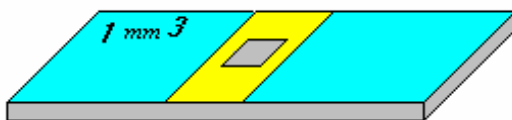
Figure 1 : Remplissage et préparation des tubes à hémocrite



Calculer la valeur de l'hématocrite suivant la relation :

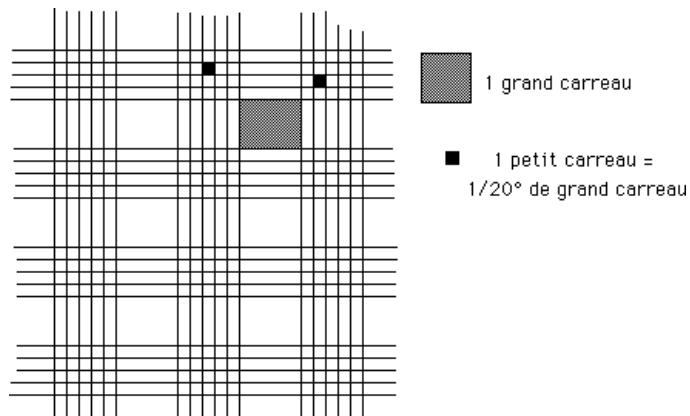
$$H \text{ (en \%)} = \frac{\text{Niveau du culot}}{\text{Hauteur globale}} \times 100$$

4 Numération globulaire



La cellule de Malassez :

La gravure d'une lame de Malassez se



compose d'un certain nombre de traits, délimitant en fait, 100 grands carreaux, dont certains sont subdivisés en 20 *petits carreaux*

Longueur = 0,25 mm

Largeur = 0,20 mm

Profondeur = 0,20 mm

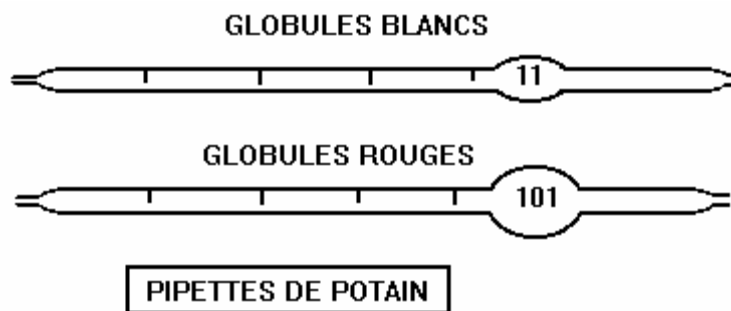
Le volume total de la cellule est de 1 mm³ (2,5 x 2 x 0,20)

Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales de 0,25 mm de large et de 10 bandes horizontales de 0,20 mm de large formant ainsi 100 rectangles, on ne comptera les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule.

Pour réaliser le remplissage de la cellule, il faut :

- Humidifier les glissières latérales sur lesquelles va reposer la lamelle
- Déposer la lamelle sur les rebords, celle-ci doit adhérer par un "effet ventouses"
- Placer l'extrémité de la pipette sur la partie 2 contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordement vers les rigoles.

Les pipettes de POTAIN :



La grande pipette est marquée 101 au-dessus de la boule, elle sert au comptage des hématies dont le nombre est très grand. On dilue donc 1 partie de sang

pour 100 parties de solution de HAYEM.

La petite est marquée 11 elle sert à diluer le sang au 1/10^{ème} avec la solution de LAZARUS qui détruit les hématies et colore les globules blancs.

Mode opératoire

La numération sera faite sur sang de mammifère (mouton, lapin ou rat).

1 Dilution du sang.

Plonger la pipette (101 ou 11) qui doit être propre et sèche dans une goutte de sang. Aspirer jusqu'au trait 1 essuyer la pointe à l'aide de papier hygiénique puis diluer avec les solutions de HAYEM ou de LAZARUS :

- Globules rouges aspirer jusqu'au repère 101 la solution de HAYEM.
- Globules blancs aspirer jusqu'au trait 11 la solution de LAZARUS.

Maintenir la pipette horizontalement et la faire rouler entre les doigts. La petite boule à l'intérieur assurera le mélange.

2 Comptage

Bien nettoyer la cellule avant de l'utiliser prendre la pipette de POTAIN et soufflez pour rejeter les premières gouttes contenues dans la tige.

Déposer alors une goutte du mélange sur la zone quadrillée de la cellule. Recouvrir d'une lamelle en évitant les bulles d'air. Disposer sous le microscope au grossissement de 400 fois et compter les cellules.

2.1 Globules rouges

Compter le nombre d'hématies dans 10 carrés et faire la moyenne - les carrés seront choisis au hasard.

$$\text{Moyenne MH} = \frac{C1+C2+C3+\dots+C10}{10}$$

Le nombre d'hématies $NH = MH \times 2000 \times 100$ (hématies / mm^3 .)

$$1mm^3 = 2000 \text{ petits carrés, dilution du sang } 100.$$

2.2 Globules blancs

Leur nombre étant plus réduit on comptera sur les rectangles constitués de 20 petits carrés - on choisira 5 rectangles au hasard.

$$\text{Moyenne MGb} = \frac{C1+C2+C3+C4+C5}{5}$$

Nombre de Globules blancs $NG = MGb \times 100 \times 10$

100 grands carrés / mm^3 , dilution du sang 10 fois

Comparer les résultats de plusieurs échantillons de sang