

2

EQUIPEMENT DE BASE DU LABORATOIRE DE L'ESV

Des outils à utiliser de façon adéquate

2.1 MATÉRIEL DE PAILLASSE :

- A. Le microscope - C. Trumel
- B. Les centrifugeuse - JP. Braun
- C. Le réfractomètre clinique - JP. Braun

2.2 LES PETITS ANALYSEURS PORTABLES - JP. Braun

2.4 LES TESTS RAPIDES À LECTURE VISUELLE - JP. Braun

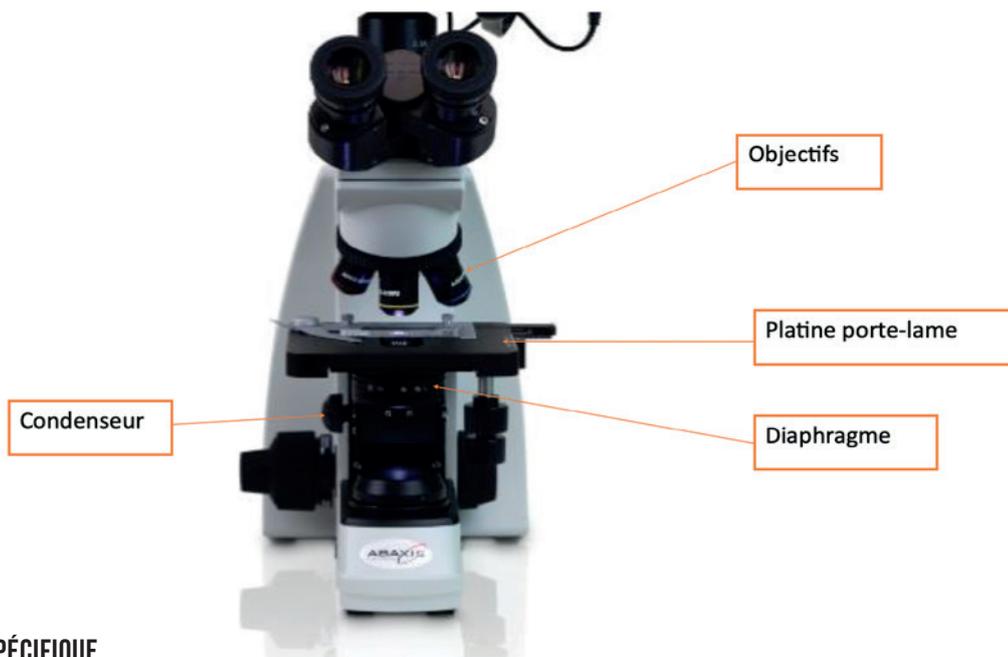


OBJECTIF

Savoir choisir et utiliser un microscope en fonction de ce que l'on a à regarder.

1. EQUIPEMENT D'UN MICROSCOPE OPTIQUE

- Tête binoculaire X 10, de diamètre variable (13 à 20 mm).
- Objectifs X 4, X 10, X 40, X 100.
- Objectif X 20 en option mais utile en hématologie et cytologie.
- L'objectif X 100 s'utilise avec de l'huile à immersion. Les différentes huiles ne sont pas miscibles ; choisir une seule huile.
- Préférer les microscopes ayant un condenseur à position variable.
- Préférer les microscopes vendus par des fabricants de microscopes ayant un service après-vente.
- Préférer les microscopes dont la lumière est froide et dans les bleus pour avoir une meilleure qualité d'image et une meilleure appréciation des couleurs des éléments observés.

**2. UTILISATION SPÉCIFIQUE**

- **Pour regarder un frottis sanguin ou une lame d'étalement cytologique :**
 - ◇ Monter le condenseur au maximum afin qu'il soit pratiquement au contact de la platine porte-lame.
 - ◇ Ouvrir le diaphragme au maximum.
 - ◇ Pour éviter un éblouissement trop important, diminuer l'intensité lumineuse par le rhéostat situé sur le bouton d'ouverture ou en général à proximité.
- **Pour regarder un prélèvement en suspension (culot urinaire, test d'agglutination sur lame, spermogramme) :**
 - ◇ Abaisser un peu le condenseur (position intermédiaire entre le minimum et le maximum).
 - ◇ Fermer le diaphragme au maximum ou presque.
 - ◇ Augmenter l'intensité lumineuse si nécessaire par le rhéostat.

3. LAMES À UTILISER

- Choisir des lames rodées industriellement pour éviter la poussière de verre qui rend la réalisation d'un étalement difficile par la présence de « grumeaux », et la lecture d'un culot urinaire délicate par la présence systématique de cristaux ... de verre artéfactuels.
- Choisir des lames dégraissées industriellement pour éviter la présence de gras sur les lames rendant les étalements de sang difficiles.
- Choisir des lames matées à une extrémité afin de pouvoir écrire au crayon de papier les informations sur le patient, la date de prélèvement et la nature du prélèvement. Seul le crayon de papier doit être utilisé car les feutres indélébiles ne le sont plus dans les bains de coloration.

4. POSITIONNEMENT DE LA LAME SUR LE MICROSCOPE ET OBSERVATION

- Tenir la lame à observer par la zone matée et positionner la lame dans l'espace prévu à cet effet sur la platine porte-lame systématiquement avec la main droite si vous êtes droitier et avec la main gauche si vous êtes gaucher. Cette préconisation a pour objectif d'être systématique et de gagner du temps.
- Faire la mise au point avec votre objectif X10, puis en fonction des besoins tourner la tourelle porte-objectifs sans abaisser la platine porte-lame et en ajustant simplement la mise au point par la vis micrométrique (système de mise au point fin).
- Pour l'objectif X 40, placer une lamelle fine sur votre lame à observer afin d'obtenir une netteté parfaite.
- Ne pas mettre d'huile en contact avec les objectifs (sauf objectif à immersion). En cas d'accident, utiliser un papier absorbant doux pour enlever le plus rapidement possible le surplus d'huile, puis si nécessaire, nettoyer l'objectif en utilisant un nettoyant spécifique vendu par le fabricant ou en utilisant un mélange 50 % d'éther et 50 % d'alcool incolore à 90 ou 95° (ne surtout pas utiliser d'alcool de couleur jaune).

5. ENTRETIEN DU MICROSCOPE

- Essuyer chaque soir l'objectif X 100 avec un papier absorbant. En cas d'utilisation intense, utiliser un nettoyant (cf paragraphe précédent).
- Recouvrir le microscope entre ses utilisations.

OBJECTIF

Fractionner et/ou séparer les constituants d'une suspension hétérogène pour :

- en déterminer les proportions relatives (ex. hématocrite),
- ou en préparer une fraction (ex. préparation d'un plasma ou d'un sérum, d'un culot urinaire),
- et/ou concentrer le spécimen (culot urinaire, liquide d'épanchement cavitaire ...).

1. TYPES D'ÉQUIPEMENTS DE ROUTINE

En fonction des besoins :

- Rotors horizontaux pour hématocrite.
- Rotors angulaires (ou oscillants) et vitesses variables pour préparer des sérums, plasmas, culots ...

2. VITESSE DE CENTRIFUGATION

Expression : en principe en g^* et non en tours/min ; l'accélération varie en fonction du rayon de centrifugation soit nombre de $g = 1,118 \times 10^{-5} \times \text{rayon (cm)} \times (\text{nb tours/min})^2$

- Vitesse modérée (environ 300 à 500 g pendant environ 5 min) pour préserver les éléments figurés (cellules sanguines, cylindres urinaires, etc.).
- Vitesse forte à très forte pour séparer le plus possible les phases solide et liquide (environ 3000 g pendant 5 à 10 min pour la préparation des plasmas ; 12 à 15000 g pendant 3 à 5 min pour l'hématocrite).

3. PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

- Equilibrer les charges du rotor (moins important pour les centrifugeuses à microhématocrite) pour éviter d'endommager l'appareil.
- Nettoyer soigneusement la cuve et les godets ou le plateau.
- Ne jamais ouvrir le couvercle avant arrêt complet du rotor (en principe impossible avec les matériels les plus récents).

LEXIQUE

***g** : Valeur approximative de l'accélération de la pesanteur. Il exprime le rapport entre la force centrifuge et la pesanteur descendante, c'est à dire le poids

OBJECTIF

Utilisations en biologie médicale :

- Dosage des protéines sériques ou plasmatiques.
- Mesure de la densité urinaire (urines centrifugées en cas de turbidité).
- Evaluation de la concentration protéique des liquides d'épanchements.

1. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT

- Mesure de l'indice de réfraction d'une solution et conversion empirique de cette valeur en un résultat de concentration de protéines ou de valeur de densité urinaire.
- L'indice de réfraction dépend de la totalité des molécules en solution (d'où le vocable anglais parfois utilisé de Total Solids) :
 - ◇ dans un sérum, un plasma ou un épanchement, le principal facteur de variation de l'indice de réfraction est la concentration protéique,
 - ◇ dans l'urine, c'est la quantité totale de molécules et ions en solution qui déterminent la densité.

2. AVANTAGES MAJEURS

- Résultat instantané avec un très faible volume de spécimen (1 goutte).
- Résultats bien corrélés avec l'osmométrie pour la densité urinaire (mais non avec les bandelettes dont les résultats sont le plus souvent inexacts) et avec la réaction du biuret pour les protéines.
- Pratiquement aucun effet de l'ictère (qui entraîne des résultats faussement abaissés de la mesure des protéines avec la technique du biuret)

3. FACTEURS DE VARIATION

- La température : son influence est faible ; de nombreux réfractomètres ont une compensation automatique de la température.
- La turbidité des solutions ou la présence d'hémoglobine qui rendent parfois aléatoire la lecture du résultat avec les appareils à lecture visuelle ; la bilirubine n'interfère pas.
- Dans un sérum ou un plasma, des concentrations élevées de petites molécules (urée, glucose par exemple) entraînent une légère erreur par excès.
- La conversion entre indice de réfraction et résultat de mesure (protéines, densité) étant empirique, les résultats donnés par les réfractomètres de différentes marques peuvent différer légèrement ou bien être inexacts dans certaines espèces.
Il en résulte qu'il est prudent de ne comparer que des résultats obtenus avec le même instrument.

4. LIMITES DU RÉFRACTOMÈTRE

- Pour l'urine, la limite supérieure de l'intervalle de mesure est 1,050 ; si les urines sont très concentrées, diluer au ½ avec de l'eau distillée, mesurer et multiplier les chiffres décimaux de l'échelle de lecture par 2.
- Pour les protéines des liquides d'épanchement, la mesure est semi-quantitative en-dessous d'environ 10 g/L mais permet de distinguer transsudat et exsudat.

PRÉCAUTION PRÉALABLE D'UTILISATION INDISPENSABLE

- ✓ Avant toute mesure (ou au moins fréquemment), vérifier la valeur 1,000 avec de l'eau distillée (ou à défaut de l'eau du robinet, mais jamais avec autre chose) pour éviter le risque d'erreur de mesure de la densité urinaire ou des protéines.
- ✓ Nettoyer régulièrement l'optique de l'appareil, exclusivement avec de l'eau et un chiffon doux (ne jamais utiliser d'eau de Javel, solvants, détergents, matériaux rugueux)

Objectifs : * Équipement constitutif du laboratoire indispensable et utilisé au quotidien	Équipement de base du laboratoire de l'ESV pour de nombreux examens au chevet de l'animal
Indication : * Matériel	<input checked="" type="checkbox"/> Indispensable <input type="checkbox"/> Utile <input checked="" type="checkbox"/> En urgence au chevet de l'animal <input type="checkbox"/> Dans un délai rapide pour poser un diagnostic
Avantages : * Usage	<input checked="" type="checkbox"/> Facile <input type="checkbox"/> Rapide <input checked="" type="checkbox"/> Disponible <input type="checkbox"/> Faible coût
Inconvénients /Contraintes : * Utilisation	<input type="checkbox"/> Difficile <input checked="" type="checkbox"/> Longue (parfois, assez...) <input type="checkbox"/> Contraignante <input checked="" type="checkbox"/> Coût moyen (en temps passé ...)
Apport au diagnostic : * Important par les nombreux examens réalisables	<input checked="" type="checkbox"/> Examen d'orientation <input checked="" type="checkbox"/> Examen de confirmation * Sensibilité : 1 2 3 4 5 (de - à +) * Spécificité : 1 2 3 4 5 (de - à +)
Contrôle qualité : Oui	<input checked="" type="checkbox"/> Technique manuelle (paramétrage technique des appareils) <input type="checkbox"/> Technique automatisée (contrôle de qualité du matériel et des résultats)
Niveau de technicité requis : Faible	* Niveau : 1 2 3 4 5 (de - à +)
Coûts des examens : Modéré	Matériel : <input type="checkbox"/> Bas <input checked="" type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé Temps passé : <input type="checkbox"/> Bas <input checked="" type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé Prix des réactifs : <input checked="" type="checkbox"/> Bas <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé
Élimination des déchets avec les DASRI :	<input checked="" type="checkbox"/> Oui - lames, tubes capillaires, cônes de pipettage <input type="checkbox"/> Non
Hygiène et sécurité :	* Risque : 1 2 3 4 5 (de - à +)

OBJECTIFS

- Les glucomètres et autres analyseurs portables similaires sont de petits appareils destinés majoritairement à l'auto-contrôle de patients humains ou dérivés de ces appareils. Ils fonctionnent sur une goutte ou un très faible volume de sang total et peuvent être mono ou multiparamétriques.
- L'objectif de qualité est de vérifier que ces analyseurs donnent des résultats utilisables en biologie médicale animale et de tenir compte de leurs limites. Certains d'entre eux ont été validés dans une ou plusieurs espèces animales pour certains types de spécimens ; cela doit être documenté au cas par cas.

1. CARACTÉRISTIQUES DE CES ANALYSEURS

- Le spécimen prévu en biologie humaine est du sang total capillaire prélevé à la pulpe du doigt (exceptionnellement au talon en pédiatrie).
- Une conversion est effectuée par l'analyseur pour donner un équivalent de concentration plasmatique de l'analyte.
- Selon la valeur de l'hématocrite, il n'est donc pas anormal d'obtenir une valeur différente (faiblement) de la concentration mesurée dans un plasma.

2. CONTRÔLE DE QUALITÉ DES PETITS ANALYSEURS PORTABLES

- Les fabricants proposent des solutions de contrôle permettant de s'assurer de l'exactitude des mesures pour des spécimens humains. Cependant, ces contrôles ne sont pas adaptés aux spécimens animaux.
- On ne peut donc que vérifier le bon fonctionnement de l'analyseur sans préjuger de l'exactitude des mesures avec des spécimens animaux.

3. DIFFÉRENCE ENTRE RÉSULTATS SÉRIQUES OU PLASMATIQUES ET RÉSULTATS DES ANALYSEURS DU TYPE GLUCOMÈTRE

- La différence entre les deux types de mesures étant « normale », il ne faut jamais comparer les résultats obtenus avec les deux systèmes.
- D'éventuels suivis de patients (par ex. test d'hyperglycémie) ne peuvent être faits que sur les mêmes spécimens et le même analyseur.

- ✓ Vérifier périodiquement le bon fonctionnement à l'aide des solutions de contrôle des fabricants
- ✓ Ne pas alterner avec les résultats d'analyses habituelles pour le suivi d'un patient

Quelques applications :

- *Ces matériels sont utilisés comme équipement de paillasse du laboratoire de l'ESV ou outil embarqué en voiture en rurale.*
- *Les analyses proposées sont diverses : glycémie pour le chien et le chat, lactates et corps cétoniques chez les ruminants, SAA (Serum Amyloïd A) chez le cheval....*

Pour en savoir plus :

- *Dossier: Quelle stratégie analytique pour mon ESV, fiches 4.1 à.4.4*

DÉFINITION – OBJECTIFS

- Les tests rapides à lecture visuelle visent principalement à l'évaluation quantitative ou semi-quantitative de un ou plusieurs marqueurs sanguins ou urinaires dans un but de dépistage.
- Très simples à utiliser, ils donnent de bons résultats à condition de les utiliser dans les conditions recommandées par les fabricants.

1. CARACTÉRISTIQUES DES TESTS RAPIDES À LECTURE VISUELLE

- Ces tests ont :
 - ◇ plusieurs présentations : bandelettes, cartouches, etc ;
 - ◇ des méthodes diverses : colorimétrie, enzymologie, immunologie, etc ;
 - ◇ une zone de dépôt du spécimen dont le volume n'est en général pas contraignant ;
 - ◇ une zone de lecture (parfois confondue avec la zone de dépôt) à comparer visuellement à l'échelle de lecture donnée par le fabricant ;
 - ◇ pour éviter la variabilité de lecture des utilisateurs, certains sont couplés à des lecteurs spécifiques.
- Les résultats sont qualitatifs (par exemple, présence vs absence) ou au mieux semi-quantitatifs (les concentrations indiquées par les fabricants n'ont pas été validées pour des spécimens animaux à quelques exceptions près).

2. CONTRÔLE DE QUALITÉ DES TESTS RAPIDES À LECTURE VISUELLE

Même si les fabricants proposent des solutions de contrôle, il est rare qu'elles soient utilisées, ces contrôles n'étant pas superflus.

- Les principales précautions d'utilisation sont :
 - ◇ de respecter la date de péremption ;
 - ◇ de conserver les réactifs dans des conditionnements fermés (par exemple, toujours refermer les flacons de bandelettes urinaires) dans les conditions de température recommandées et de **respecter les délais de remise à température ambiante avant utilisation pour les réactifs conservés en réfrigération ou en congélation ;**
 - ◇ de suivre à la lettre les modes opératoires donnés par les fabricants.

Ces tests sont si simples à utiliser qu'il est impératif de le faire en respectant **toutes** les conditions d'utilisation recommandées par le fabricant.

pour en savoir plus

- *Dossier : Infectiologie, fiche 3.7. A Tests rapides à orientation diagnostique*
- *Dossier : Quelle Stratégie analytique pour mon ESV, fiches 4.1.à 4.4*