

UFR Sciences & Techniques Côte Basque

Université de Pau et des Pays de l'Adour

Licence Physique-Chimie

ANALYSES DE SANG EN LABORATOIRE : ÉTUDE DES PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET DE LEUR IMPACT SUR LES DIAGNOSTICS.

MARGUIRAUT Ekhi

Stage effectué du 11 Avril au 11 Juin 2016 à

AX BIO Océan
28 Rue du colonel Melville Lynch
64600 – ANGLET

Sous la direction scientifique de Mme Isabelle GARNIER.



REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser des remerciements aux personnes suivantes, qui ont permis l'aboutissement de ce stage :

Monsieur **Jean-Louis CLAVERE** pour m'avoir accordé ce stage et m'avoir accordé de son temps lors de la prise de contact avec le laboratoire. De même, je remercie vivement mesdames **Isabelle GARNIER**, **Anne de CASANOVE**, **Geneviève COUS** ainsi que monsieur **Dominique SAVARIT** pour leur accueil au plateau technique, pour la richesse des informations qu'ils ont su m'apporter, la confiance qu'ils m'ont accordée et leur convivialité au quotidien.

Je remercie grandement l'ensemble de l'équipe de techniciens du plateau technique de Maignon, tant du plateau chimie-hématologie que de la bactériologie, pour le temps qu'ils m'auront consacré en permanence afin de m'expliquer leur travail ainsi que les procédés des analyses qu'ils réalisaient. De plus, je les remercie pour la façon dont ils m'ont accueilli et intégré à l'équipe. Enfin, je tenais à remercier personnellement monsieur **Emmanuel LATAUD** qui a pris le temps de me faire un cours condensé d'hématologie et de différenciations des cellules présentes dans le sang. Ses enseignements m'ont permis de bien mieux comprendre les diagnostics rendus ainsi que l'observation des frottis.

Sommaire

Remerciments	2
I. Introduction	4
II. Evolution des méthodes d'analyse et des laboratoires au cours du temps.....	5
III. Structure d'accueil.....	7
a) Présentation de la structure d'accueil	7
b) Organisation et logistique	8
IV. Protocoles expérimentaux et analyses.....	11
V. Réflexion sur les protocoles expérimentaux employés et sur leurs impacts	15
VI. Conclusion	21
Références.....	22
Annexes	24

I. INTRODUCTION

Afin de valider une licence en physique-chimie théorique, l'université de Pau et des pays de l'Adour demande à ses étudiants de troisième année de suivre un stage en milieu professionnel ou pédagogique durant un à deux mois.

Etant personnellement intéressé par l'enseignement mais ayant déjà suivi des stages dans ce milieu durant mes années de licence, j'ai souhaité découvrir le monde de l'entreprise afin d'être sûr de mon orientation future. J'ai eu la chance de trouver une place au plateau technique des laboratoires d'analyse Ax Bio Océan : il s'agit du site chargé d'effectuer les analyses des échantillons prélevés sur les différents sites satellites. Ce poste peut convenir tant à un chimiste qu'à un biologiste, même si nous verrons par la suite que des connaissances en biologie cellulaire sont nécessaires pour permettre une bonne compréhension des analyses menées.

Un stage dans une telle structure implique cependant une contrainte assez importante : un stagiaire n'est pas autorisé à manipuler et expérimenter que ce soit les échantillons sanguins ou les automates. En effet, la biologie médicale implique de très grosses responsabilités, et les diagnostics ainsi que l'intégrité des échantillons ne peuvent pas être confiés à un stagiaire n'étant pas formé et habilité aux postes techniques. Il doit donc rester en observation tout le long de son stage et ne peut donc pas mener de lui-même des analyses.

Au vu des conditions imposées, ce rapport ne traitera donc pas d'expérimentations, mais de l'étude des protocoles expérimentaux et de leur impact sur les diagnostics dans un laboratoire d'analyse de sang. Pour ce faire, nous décomposerons cette étude en différentes parties : dans un premier temps, nous retracerons brièvement l'évolution des méthodes d'analyse et des laboratoires au cours du temps. Puis, après avoir présenté la structure d'accueil, nous ferons un point sur l'organisation des tâches et sur la logistique au sein du laboratoire. Nous présenterons par la suite les différentes analyses réalisées et les protocoles expérimentaux associés, puis nous chercherons à analyser les méthodes techniques employées et quel impact ces techniques ont sur le diagnostic final. Nous verrons en conclusion ce que notre étude nous permet de mettre en évidence au sein du laboratoire, ainsi que ce que ce stage m'aura appris et apporté, tant en connaissances théoriques que techniques.

II. EVOLUTION DES METHODES D'ANALYSE ET DES LABORATOIRES AU COURS DU TEMPS

Comme de nombreuses professions ces dernières années, les postes de techniciens en laboratoire ont connue de grandes modifications : ces changements sont notamment dûs à un regroupement des laboratoires de prélèvement en un même groupe, augmentant ainsi considérablement les patients traités en une seule journée. Auparavant, chaque site de prélèvement procédait également à l'analyse de ses échantillons et à un suivi du patient total, du prélèvement jusqu'au diagnostic, chaque technicien prélevait, analysait et diagnostiquait ses patients. Afin de centraliser le matériel, faciliter les analyses supplémentaires lorsque celles-ci sont nécessaires et maintenir un personnel spécialisé en analyse sur site en permanence les laboratoires se sont regroupés en une même structure, et toutes les analyses sont effectuées sur le plateau technique. De ce fait, les personnes chargées du prélèvement ne procèdent plus au diagnostic de leurs patients. Ceci peut être vu de deux façons différentes : cette dissociation permet aux techniciens de ne plus directement connaître la personne diagnostiquée, limitant ainsi l'usure morale que représente le diagnostic de maladies graves par exemple. Ainsi, les techniciens associent une maladie à un tube numéroté et moins à une personne qu'ils ont rencontrée. En revanche, pour certains techniciens, ces dispositions ont rendu leur travail trop mécanique et moins « humain », ce qui a entraîné des reconversions. De plus, cette dissociation des tâches permet un gain de temps évident : les employés chargés du prélèvement peuvent se concentrer sur leur tâche tout au long de la journée et les techniciens du plateau n'ont pas l'impératif de devoir gérer les patients venant se faire prélever.

Le second changement majeur que la profession a connu est l'évolution de la technologie qui s'est accélérée cette dernière décennie. En regroupant les échantillons à analyser sur un seul site, la quantité de tubes à traiter en une journée par chaque technicien s'est décuplée. Il a donc fallu modifier les façons de procéder afin de pouvoir travailler efficacement tout en gardant la même précision d'analyse et le même contrôle sur les résultats. Ceci a alors fait passer l'analyse en laboratoire à un stade quasi industriel : le rôle de technicien qui était auparavant de réaliser manuellement les analyses en effectuant des titrages, des réactions anticorps-antigènes, des frottis sanguins et leur observations par exemple, s'est éloigné de ce côté manuel. En effet, de très nombreuses analyses sont à présent faites par des automates, puis ces analyses sont validées sur ordinateur par les techniciens qui doivent vérifier la conformité du travail de la machine ainsi que s'assurer que des résultats critiques soient rapidement traités et transmis aux médecins traitants. Il demeure cependant certains postes, au laboratoire, de techniques manuelles sur lesquelles nous reviendrons par la suite. Les maladies rares ou les recherches de drogues dans le sang et les urines y sont notamment traitées, puis confirmées par un second diagnostic. De plus, les analyses de bactériologie représentent également un autre pôle où les techniques manuelles sont toujours employées, bien que les automates commencent à faire certaines des tâches des techniciens.

Malgré ces modifications au niveau des habitudes de travail ainsi que du rôle des techniciens au sein du plateau technique, il est pour l'instant inconcevable d'imaginer un laboratoire automatisé ou dans lequel seul une poignée d'employés travailleraient : l'utilisation de machines permet certes de gagner du temps et de libérer les techniciens pour leur permettre d'accomplir d'autres tâches, mais ces derniers doivent en permanence contrôler le travail effectué par les automates afin de surveiller la cohérence des résultats, vérifier qu'aucun échantillon n'est oublié ainsi que procéder aux maintenances et calibrations nécessaires au bon fonctionnement des appareils.

Afin d'obtenir certaines accréditations, ainsi que de convenir aux différentes règles de qualité imposées, chaque soucis technique pouvant impacter l'exactitude des résultats est enregistré informatiquement et signalé à la direction. Ceci permet de suivre l'état de la structure en général et de procéder à une étude d'impact en cas de besoin : lorsqu'un automate se révèle avoir dysfonctionné durant la journée, il faut vérifier que les résultats et les diagnostics ne sont pas faussés par ce soucis technique. Il faut alors analyser de nouveau une partie des échantillons et vérifier si les résultats obtenus lors de la seconde analyse sont significativement différents de ceux trouvés durant la journée, et si cet écart justifie de procéder de nouveau à l'analyse de tous les échantillons ayant été traités durant le dysfonctionnement de l'automate.

Ainsi, le travail de technicien en laboratoire a subi ces trois modifications majeures : le regroupement des échantillons à analyser en un seul plateau technique ainsi que la distinction des sites (prélèvements et plateau technique d'analyses), le remplacement des techniques manuelles par des automates, permettant une plus grande vitesse d'analyse mais changeant radicalement le rôle des techniciens. Enfin, les nouvelles règles d'hygiène, de conditionnement, de suivi des échantillons et des réactifs employés ainsi que l'ensemble des exigences imposées par les règles de qualité ont pris une place conséquente au laboratoire et représentent une partie non négligeable des tâches quotidiennes à effectuer.

Nous avons pu voir dans cette partie en quoi le travail de technicien de laboratoire avait évolué au cours du temps, entraînant de nouveaux impératifs et changeant radicalement les compétences nécessaires pour exercer le métier. Nous présenterons à présent la structure d'accueil qui a rendu ce stage possible : le laboratoire Ax Bio Océan, et plus précisément son plateau technique.

III. STRUCTURE D'ACCUEIL

Dans cette partie, nous présenterons l'organisation de la structure Ax Bio Océan qui m'a accueilli lors de ce stage. Nous verrons que ce laboratoire est le résultat de la fusion de plusieurs groupes et nous étudierons enfin leur organisation logistique par le biais d'un organigramme notamment.

a) Présentation de la structure d'accueil

Le groupe Ax Bio Océan regroupe des laboratoires des Landes, du Béarn et du Pays Basque, s'étendant ainsi de Dax à Biarritz en passant par Hasparren, Cambo les Bains, Oloron... Ce sont en tout 23 laboratoires et sites d'analyses qui sont à présents rattachés au groupe, fruit de la fusion entre trois groupes de laboratoires : Ax Bio Sud, Bio Océan Pays Basque et Adour Pyrénées Laboratoires. La première fusion a eu lieu le premier janvier 2011 entre Ax Bio Sud et Bio Océan puis Adour Pyrénées Laboratoires a rejoint le groupe trois ans plus tard. Suite à ce regroupement, le plateau technique de Maignon à Anglet a été construit et est devenu le site d'analyse principal du groupe : son ouverture date du 4 mai 2015, il s'agit donc d'un site assez jeune et dont l'organisation risque de changer de nouveau dans les mois à venir.

Le groupe est codirigé par 23 biologistes co-responsables gérant chacun un des sites, chacun étant spécialisé dans un domaine de la biologie médicale, permettant ainsi d'adresser les patients au pôle le plus adapté à leur besoin s'ils nécessitent une attention particulière. De plus, le plateau technique de Maignon voit quotidiennement un ou plusieurs des biologistes venir en aide aux diagnostics les plus exigeants ou confirmer certains diagnostics de maladies graves notamment, afin de valider le travail des techniciens du plateau.

L'essentiel des analyses est, comme dit précédemment, réalisé à Anglet, mais il ne s'agit pas là du seul et unique site d'analyse du groupe : les pôles de St Vincent de Tyrosse, St Palais, Orthez, Dax et de la clinique Belharra procèdent également à des analyses. Cela permet de posséder un site de secours si un des pôles d'analyse connaissait une panne majeure ainsi que d'alléger la charge de travail du plateau principal.

Ainsi, les pôles d'analyse secondaires prennent en charge les tâches suivantes :

Clinique Belharra	St Vincent de Tyrosse, Dax, Orthez
Hématologie Générale	Hématologie Générale
Hémostase Générale	Hémostase Générale
Chimie – Immunologie Générale	Chimie – Immunologie Générale
Gaz du Sang	-
Groupes Sanguins	-
Immunologie : HIV, Hépatites...	-

Le plateau technique de Maignon centralise l'essentiel des échantillons suivants :

- Hématologie Générale
- Hémostase Générale
- Chimie – Immunologie Générale
- Microbiologie

Le plateau de chimie traite exclusivement des échantillons sanguins, ainsi que de très rares tubes d'urine servant à la détection de drogues ou de maladies immunitaires. Tous les autres types de prélèvement sont dirigés en bactériologie, où la recherche d'infection microbienne ou bactérienne est réalisée.

Ainsi, seuls les tubes extrêmement urgents des différents sites périphériques sont analysés sur place, les autres sont redirigés sur Anglet. En revanche, le plateau technique est le seul à réaliser les analyses de microbiologie (bactériologie), l'intégralité des échantillons nécessitant des analyses bactériologiques y sont regroupés et traités. Ainsi, le laboratoire de microbiologie nécessite la mise en place de règles d'hygiène et de conditionnement encore plus rigoureuses que celles appliquées en chimie : il ne faut en aucun cas contaminer les échantillons avec des germes ou des bactéries ambiantes avant de les mettre en culture : ceci pourrait fausser les résultats et entraîner un diagnostic erroné.

b) Organisation et logistique

La gestion d'un groupe de l'importance d'Ax Bio Océan implique un effectif important ainsi qu'une bonne hiérarchie et organisation des tâches. Ainsi, ceux sont plus de 200 employés qui constituent la structure, répartis entre les différents sites et différents services : techniciens, préleveurs, secrétaires, coursiers... Toute cette équipe est répartie et dirigée par différentes commissions ayant chacune des missions précises : ces commissions sont dirigées par un ou plusieurs des biologistes du groupe. Voici la répartition de ces différentes commissions avec les missions qui leur sont attribuées :

Commission Technique	Commission Processus Métier	Commission Processus Support	Commission Processus Management
Chimie -Immunologie	Pré-Analytique	Ressources Humaines	Organisation
Bactériologie	Analytique	Gestion des Stocks	
Hématologie	Post-Analytique	Informatique	Management de la qualité
Petites Techniques	Urgences	Matériel	
HT 21	AMP	HSE (Hygiène Sécurité Environnement)	

Enfin, chaque tube suit un parcours bien défini au sein du laboratoire afin d'éviter toute erreur et de permettre de connaître en permanence la position d'un échantillon et ce, quel que soit sa position dans un des sites du groupe : chaque machine ou poste d'analyse est équipé de lecteurs de codes-barres permettant de lire l'identité du tube par le biais de son étiquette. Cet identifiant permet de connaître l'identité du patient ainsi que ses antécédents par le biais de la base de donnée du laboratoire. Enfin, la lecture du code barre est enregistrée, permettant d'inscrire la position du tube dans le laboratoire ainsi que l'heure de passage et le nom de l'analyste l'ayant traité.

Le trajet d'un échantillon au sein du groupe est représenté dans le schéma du trajet d'un tube à analyser, disponible en annexes. (Figure 1 – Suivi Tube) Les flèches pleines y représentent le cycle d'analyse classique pour un tube ne présentant pas de particularités nécessitant une analyse supplémentaires ou n'impliquant pas de diagnostics graves. Les flèches en pointillés représentent quant à elles des étapes supplémentaires pouvant être nécessaires dans certains cas que nous verrons par la suite. Comme nous pouvons le constater par le biais de cette figure, la partie analyse de l'échantillon au laboratoire ne représente qu'une partie du travail à effectuer : elle est le procédé permettant d'établir un diagnostic qui lui-même permettra de mettre un patient sous traitement. Il reste donc de nombreuses étapes nécessaires à l'établissement : du conditionnement des échantillons à l'interprétation des résultats d'analyses en diagnostic en passant par la livraison ainsi que la communication au sein de l'équipe qui représente un chaînon primordial, chaque étape doit suivre des règles strictes afin d'éviter tout écart sur le diagnostic final.

L'ensemble des opérations décrites sont réalisées en moins de 24 heures, et ce pour satisfaire plusieurs conditions : traiter chaque patient aussi vite que possible, permettant ainsi une mise sous traitement dès que possible, éviter la détérioration de l'échantillon : pour les analyses d'hématologie et de chimie par exemple, les résultats d'analyse d'un même prélèvement datant du matin, varient légèrement au cours de la journée. Il faut donc que chaque maillon de la chaîne soit opérationnel et ne retarde pas le laboratoire tout entier. Enfin, chaque tube reçu doit être traité le jour même afin de libérer les automates pour les tubes arrivant les jours suivants. Le retard est difficile à rattraper dans cette profession, les urgences étant fréquentes et les échantillons à traiter nombreux.

L'informatique du laboratoire regroupe 3 logiciels dominants :

- **Hexalis** : Il permet l'enregistrement et la gestion des dossiers patients. De plus, il fait l'interface avec l'extérieur, permettant de communiquer les résultats aux médecins traitants, aux différentes caisses sociales (CPAM, RSI...) ainsi qu'aux patients. Toutes les informations sont stockées et traitées par le serveur informatique du groupe, situé au plateau de Maignon.

- **Kalilab** : Il s'agit du logiciel de gestion de la qualité du laboratoire. Il permet la gestion des contrôles à passer sur les automates, la surveillance des stocks disponibles, permet les maintenances et de signaler les non conformités, effectuer les études d'impact en cas de panne ainsi que la communication au sein de l'équipe de travail.
- **BYG** : Ce logiciel représente l'interface entre les résultats bruts des automates et Hexalis. Il permet le suivi des analyses en cours, de l'état des automates et est progressivement remplacé par Rémisol, autre logiciel d'interface, plus récent et plus efficace.

Au vu de l'importance de la place de l'informatique au sein du groupe, il est évident que le serveur est en permanence surveillé et contrôlé afin d'éviter une panne qui entraînerait un arrêt du travail dans l'ensemble des sites du groupe. En effet, si les automates ne peuvent pas être contrôlés et si les résultats d'analyse ne sont pas reliés au dossier du patient, il est inutile de faire fonctionner les machines. Afin d'éviter tout problème de courant, le plateau technique dispose d'une seconde ligne d'alimentation pouvant prendre le relai si la première venait à dysfonctionner. Seuls les appareils « vitaux » au laboratoire sont reliés à cette ligne, permettant ainsi de faire fonctionner le plateau technique au ralenti et évitant ainsi un arrêt complet. De plus, en cas de piratage ou de plantage informatique, un second serveur, clone du premier, pourrait tenter de prendre le relai et communiquer les informations nécessaires. Enfin, des sauvegardes sur disques durs externes sont réalisées afin de pouvoir maintenir des archives des analyses réalisées, sur un support inaccessible et non relié au serveur. Ceci protégeant les données d'un piratage ou d'une défaillance des disques durs du serveur.

Nous avons donc vu la complexité de l'organisation d'un tel groupe et la logistique qu'elle impliquait. De plus, nous avons découvert certains procédés mis en œuvre pour répondre à des contraintes de qualité ou des contraintes scientifiques. Afin de mieux comprendre le fonctionnement du laboratoire, nous étudierons à présent les protocoles expérimentaux qui y sont réalisés et dans quelles analyses ces protocoles interviennent.

IV. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX ET ANALYSES

L'objectif de cette partie ne sera pas de faire une liste exhaustive de l'ensemble des analyses menées au plateau technique ainsi qu'en bactériologie. Nous nous concentrerons sur la partie la plus chimique des protocoles mises en œuvre et présenterons ceux qui représentent les analyses les plus fréquentes et les plus intéressantes. Nous cherchons donc bien ici à montrer les différentes analyses réalisées, expliquer leur fonctionnement et expliquer succinctement le protocole expérimental qui lui est rattaché.

La plus grande partie de mon stage a été passée dans les services d'hématologie et de petites techniques. Ces deux pôles représentent des protocoles expérimentaux opposés car le nombre de tubes à traiter y est radicalement différent et leur mission n'est également pas la même.

L'hématologie est divisée en 2 parties : le secteur d'hématologie pure et le secteur de coagulation. Le premier regroupe 3 automates différents : le DXH, le SMS, l'AliFax et le CytoDiff. Ceux-ci sont utilisés dans l'ordre dans lequel nous les présentons, certains ne sont cependant pas toujours nécessaires : seul le DXH traite tous les tubes du site. Cet appareil permet de générer la formule d'un échantillon sanguin : par lecture optique de quelques millilitres de sang qu'il prélève dans le tube, il indique la quantité de cellules comptées par millilitre de sang. Il sait faire la distinction entre les différents globules blancs notamment, permettant ainsi de connaître la nature des globules présents, chacun étant révélateur d'un problème différent, d'une infection à une leucémie, cet appareil permet également d'aiguiller le diagnostic en signalant les résultats anormaux sur la fiche d'analyse et en exprimant une piste de diagnostic.

Suite à ce comptage cellulaire, les tubes pour lesquels le DXH a trouvé des résultats anormaux sont dirigés vers le SMS qui préparera une lame de l'échantillon pour permettre au technicien et aux biologistes d'observer les cellules au microscope. L'automate prélève une goutte de sang qu'il va étaler graduellement sur la lame afin d'obtenir des épaisseurs de cellules différentes tout le long du frottis. Enfin, la lame sera colorée puis séchée avant d'être mise à disposition du technicien. Elle servira à la validation du diagnostic avancé par le DXH : le biologiste fera un comptage sur 200 cellules et comparera ses résultats à ceux de l'automate afin de valider son diagnostic ou de le réfuter. Ainsi, la machine aiguille le technicien qui peut par la suite donner son diagnostic.

L'AliFax est l'automate dans lequel 90% des tubes finissent leur cycle d'analyse en hématologie : cet appareil mesure le temps de sédimentation des globules dans le tube. Pour ce faire les échantillons sont agités puis laissés à sédimenter dans l'automate qui mesure le temps nécessaire à la formation d'un dépôt de globules, plus denses que le sérum, au fond du tube.

Si le cas du patient est assez sérieux et nécessite une analyse et un comptage plus avancé, le CytoDiff est alors employé : cet automate qui fut installé durant mon stage et qui représente donc une nouveauté pour le laboratoire, effectue une tâche très proche de celle du DXH : il compte et différencie les différentes cellules. Il est cependant plus précis et possède des méthodes de différenciations plus avancées. Le DXH se base sur un comptage optique des cellules pour établir sa formule. En revanche, le CytoDiff établit des graphiques créés grâce à la mesure des comportements optiques des différentes cellules exposées à des colorants. Ainsi, il est possible de différencier les cellules grâce à plusieurs tests (maturité, taille, coloration...) et l'automate sait au final attribuer un comportement optique à un type de cellule. On obtient donc une formule plus précise que celle établie par le DXH : cela permet aux techniciens de traiter des cas de maladies assez graves sans avoir besoin d'attendre l'arrivée des biologistes l'après-midi. On peut observer une de ces planches de graphique en [Figure 2- Graphiques CytoDiff](#) ; lors de l'installation de l'automate durant le stage, les techniciens ont été formés à l'interprétation des différents graphiques, ce qui permet de comprendre comment la machine procède à sa formule, ainsi que de surveiller l'exactitude ses résultats.

Le second secteur d'analyse est celui de la coagulation, beaucoup plus simple et réduit : il est constitué d'un unique automate effectuant à lui seul toutes les analyses de coagulation. Son fonctionnement est simple : un coagulant est introduit dans chaque tube au début de l'analyse et la machine mesure le temps nécessaire à la formation du premier caillot l'analyse du tube est alors faite, l'automate traite les données brutes recueillies et donne un résultat alors transmis au patient après avoir été validé et contrôlé par le technicien.

Afin de permettre une plus grande productivité ainsi que de garantir la possibilité de réaliser des analyses même en cas de panne d'un automate, le laboratoire est équipé de deux modules de DXH ainsi que deux Alifax. Ainsi, plus de tubes sont traités et les diagnostics sont rendus et communiqués rapidement. Il est intéressant de noter que le pôle d'hématologie/coagulation est un des plus actifs du laboratoire, traitant près de 900 analyses par jour. Ces tubes sont par la suite conservés 3 jours en chambre froide pour pouvoir effectuer des analyses supplémentaires ou refaire une analyse s'étant avérée fausse. Les tubes sont donc stockés sur des portoirs et les portoirs sont scannés, permettant ainsi de connaître la position des tubes dans la chambre froide. On peut voir ces portoirs sur la [Figure 3- Tubes Hémato/Coag](#), les tubes bleus étant ceux de coagulation et les violets ceux utilisés en hématologie. Ces tubes sont différents car ils contiennent initialement des réactifs avant même le prélèvement du sang : les violets contiennent 7.2mg d'EDTA, servant à stabiliser les tubes en évitant la coagulation qui fausserait les analyses. En effet, la coagulation est en partie due à la formation de précipités de base calcique, l'EDTA captant les ions Ca^{2+} du sang, la coagulation ne se produit pas. Les tubes bleus contiennent du citrate de sodium également employé pour éviter la coagulation du tube avant le début de l'analyse.

Une vision d'ensemble de la partie coagulation du laboratoire est disponible en [Figure 4- Pôle Hématologie](#), on peut y voir l'agencement des automates en série afin de les laisser travailler de manière autonome.

Nous présenterons la partie « Petites-techniques » du laboratoire. Derrière ce nom se cache le poste nécessitant le plus de manipulations dans le plateau. En effet, peu de tubes y passent chaque jour sur un automate, l'essentiel étant traité manuellement. L'électrophorèse des protéines y est réalisée, ainsi que les mesures d'HbA1C : ce facteur est suivi régulièrement chez les personnes diabétiques et représente une grande majorité des tubes reçus à ce poste. Pour ces deux analyses, le technicien n'a besoin que de mettre les tubes sur des racks qu'il introduit dans son automate. S'en suit, comme sur chaque poste, la validation des résultats de l'analyse puis le stockage des tubes (1 semaine de stockage cette fois) en chambre froide.

Ce qui nous intéresse à ce poste est le reste des analyses réalisées : recherche de la maladie de Lyme, mononucléose, syphilis, HIV, recherche de drogues... Toutes ces analyses sont réalisées presque entièrement à la main, ou nécessitent du moins une préparation des échantillons avant de les introduire dans l'automate. Ainsi, bien souvent des procédés de migration grâce à des CCM de taille miniature ou des réactions d'agglutination suite à une rencontre anticorps-antigènes. Afin de mettre en évidence la présence d'un antigène au sein de l'organisme d'un patient, et donc sa contamination, on emploie des réactifs faits d'anticorps venant se lier aux antigènes des contaminants et formant des précipités visibles à l'œil nu. Il est donc assez facile de mettre en évidence certaines maladies sexuellement transmissibles par exemple.

Ce poste demande donc de bonnes connaissances pratiques ainsi que des manipulations (pipetage, dilutions...) précises et rigoureuses : en effet les analyses se font sur des volumes très faibles, quelques dizaines de microlitres en général, et les marges d'erreurs y sont alors assez réduites. Il est donc intéressant de voir en ce poste un reste de ce que le travail de technicien de laboratoire devait être il y a quelques années : de nombreuses manipulations techniques, peu d'automates et peu de tubes. Malgré cela, nous pouvons penser que ce poste tend à évoluer dans les années à venir, il n'y aura plus assez de temps pour les manipulations manuelles et les automates seront suffisamment perfectionnés pour réaliser les analyses actuellement faites à la main.

En bref, il m'a été donné d'observer deux pôles aux fonctionnements différents et au travail à réaliser également opposé : l'hématologie étant presque au stade industrielle et ne demandant jamais aux techniciens de manipuler par eux-mêmes des échantillons pour mener des analyses. Ce poste demandant une grande efficacité sur un ordinateur ainsi qu'une bonne connaissance des logiciels, en plus des connaissances de biologie médicale requises bien évidemment. En revanche, les « Petites-Techniques » demandent bien plus de travail manuel et de temps pour chaque tube à traiter, limitant ainsi le nombre d'échantillons pouvant y être analysés par jour.

Enfin, nous parlerons plus brièvement des autres analyses menées sur le site, que ce soit en chimie ou en bactériologie, afin de voir quels protocoles y sont employés.

La partie chimique du plateau technique est, comme son nom l'indique, constituée d'automates réalisant des bilans chimiques des échantillons : ionométrie, immunologie, analyse de cholestérol, urée... Tout comme pour le pôle d'hématologie, le travail aux postes de chimie consiste en grande partie en une validation du travail des automates par ordinateur. Ainsi, aucune manipulation directe n'est réalisée à ce poste durant la journée. Il est important de noter que près de 1 000 tubes sont chaque jour analysés sur ces automates, il serait donc évidemment inconcevables de faire les différents bilans manuellement. Les analyses fonctionnent pour la plupart par titrage : l'automate prélève du sang qu'il place dans une cupule et y ajoute les réactifs nécessaires à l'analyse. La cupule reste sous contrôle optique, permettant de stopper le dosage à l'équivalence. Les résultats de l'analyse sont ensuite contrôlés par le technicien puis communiqués au médecin. Il existe également des analyses réalisées par suivi potentiométrique, notamment pour les ions présents dans le sang.

Enfin, nous parlerons de la microbiologie (ou bactériologie). Il s'agit du second laboratoire au sein du plateau technique ; situé au second étage dans une atmosphère contrôlée et isolée, ce pôle a pour mission de détecter des infections par des bactéries, germes, levures... Pour ce faire, les échantillons (essentiellement d'urines, mais de très nombreux types d'échantillons s'y retrouvent) sont mis en culture sur des géloses, qui sont des milieux stériles enrichies sur lesquels les bactéries par exemple vont proliférer et se développer en colonies. Suite à une période de maturation d'un jour en étuve, les géloses sont examinées manuellement et diagnostiquées : en fonction du milieu employé, les colonies auront des couleurs différentes, permettant ainsi de les différencier et identifier rapidement. Puis si le diagnostic n'est pas évident, les colonies sont observées au microscope afin de ne pas risquer d'erreurs sur la nature des contaminants. Enfin, un antibiogramme peut être nécessaire pour trouver quel antibiotique sera le plus efficace pour venir à bout des bactéries. Toutes ces expérimentations sont effectuées à la main, seule la mise en culture de l'échantillon sur les géloses est automatisée. Malheureusement, ce site demande des connaissances en biologie médicale que ma licence de physique chimie ne m'a pas apportées. Je n'ai donc pas pu poursuivre mes études sur ce pôle pourtant très intéressant et se rapprochant plus de la vision de technicien de laboratoire que j'avais.

Nous avons donc pu voir les différentes analyses réalisées au laboratoire ainsi que les protocoles expérimentaux qui leur sont rattachés. Il est évident que les automates ont pris une place prépondérante, forçant les techniciens à délaisser les méthodes manuelles pour la plupart des postes. Afin de tenter d'avoir un esprit critique sur les analyses réalisées, nous allons à présent nous interroger sur l'impact de ces protocoles expérimentaux, grandement automatisés, sur les diagnostics patients ainsi que sur le travail des techniciens.

V. REFLEXION SUR LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX EMPLOYES ET SUR LEURS IMPACTS

N'ayant aucune connaissance en biologie médicale ou cellulaire, je n'ai pas voulu consacrer mon stage à l'étude d'une maladie en particulier ou d'un poste d'analyse. Mon choix s'est porté sur une étude expérimentale des impacts des automates sur les diagnostics et ce, en raison du désir de connaître la précision de ces machines et donc leur fiabilité dans la réalisation des diagnostics. Bien évidemment, si ces appareils sont utilisés dans le domaine professionnel et qui plus est médical, il va sans dire que leur résultats se doivent d'être fiables et précis. Je ne m'attendais donc pas à trouver des écarts types élevés, je souhaitais savoir ce qui était considéré comme une « mesure précise et fiable » dans un tel cadre.

Afin de réaliser mes études, j'ai tout d'abord choisi de me concentrer sur 2 automates uniquement : les DXH, servant au comptage cellulaire en hématologie, ainsi que les automates de chimie, les Archi8200. J'ai tout d'abord recherché sur internet des tests de ses automates faits par des laboratoires spécialisés dans l'essai des nouveaux appareillages.¹ J'ai alors pu observer que les résultats des automates d'une analyse sur l'autre n'étaient pas toujours aussi précis, j'ai donc voulu tester leur précision par moi-même, ainsi que tenter de chercher des défauts à leur protocole d'utilisation ou au conditionnement des échantillons.

Pour ce faire, j'ai pendant 3 jours demandé à être piqué afin d'avoir du sang frais chaque fois. Puis, je testais mes échantillons sur les différents automates à plusieurs reprises afin de vérifier leur précision. De plus, chaque échantillon traité au laboratoire doit être étudié dans les 16h suivant son prélèvement, j'ai donc voulu également dépasser ces délais afin de vérifier l'importance de ces règles. Enfin, les prélèvements doivent être faits sur un patient à jeun : je pense que nombre de patients ne respectent pas ces conditions et arrivent au laboratoire le ventre plein. Ceci entraîne une modification de la constitution chimique du sang, augmentant évidemment le sucre dissout, les triglycérides...

Mon protocole d'étude a été le suivant :

- Prélèvement chaque jour à 11h, avec le même déjeuner tous les matins à 7h.
- Analyse réalisée à midi puis à 15h de nouveau afin de suivre l'évolution de l'échantillon sur une journée. Analyse des tubes prélevés les jours précédents également afin de suivre leur détérioration.
- Répétition 5 fois d'affilées sur chaque DXH d'un même tube afin de mettre en évidence des incertitudes.
- Conservation en chambre froide entre les analyses et les différents jours.

¹ Disponibles en partie **Références**, section Test des automates

En réalisant ces analyses, je cherchais à répondre à plusieurs questions :

- Les résultats d'un patient varient-ils d'un jour à l'autre ? Autrement dit, un patient peut-il être positif à une analyse un jour et négatif le lendemain ?
- Notre sang change-t-il donc de composition d'un jour à l'autre de manière remarquable ?
- Les appareils utilisés possèdent-ils une incertitude remarquable et celle-ci peut-elle avoir un impact sur le diagnostic ?
- Les règles de conditionnement et de qualité imposées sont-elles réellement nécessaires ?
- En quoi le non-respect de ces règles modifie le diagnostic ?

J'ai donc demandé à ce que 2 tubes de sang me soient prélevés par jour, un pour le test sur les DXH, l'autre utilisé sur l'Archi8200. Ce second tube contient initialement un gel qui après centrifugation du tube, retient les globules et les plaquettes, laissant uniquement le sérum surnageant. Celui-ci est prélevé par l'automate puis analysé. Il est donc impossible d'utiliser le même tube pour les deux analyses que je souhaitais réaliser, la centrifugation et l'isolement des globules pour le passage au DXH étant catastrophique pour les résultats.²

Les tubes du jour étaient ensuite analysés ainsi que ceux des jours précédents afin de suivre l'évolution des résultats. Ainsi chaque échantillon était analysé « frais » puis après une période de vieillissement. L'objectif de ces premières analyses étant de comparer chaque jour les résultats des sangs frais et l'évolution des analyses d'un même tube sur plusieurs jours.

Sur la *Figure 7- Suivi journalier Hémato*, nous pouvons observer le résultat de ces premières analyses. Ceux-ci révèlent des informations intéressantes : nous nous concentrerons tout d'abord sur les enseignements tirés du suivi du premier tube prélevé et de l'étude de son vieillissement. Nous pouvons tout d'abord observer que les globules rouges chutent assez rapidement, les blancs étant eux assez stables. Le reste des constituants excepté les plaquettes et les hématocrites sont assez stables sur une période de trois jours. En revanche, on remarque une donnée très intéressante au niveau de la différenciation des globules blancs : le DXH détecte des Blastes au bout du troisième jour, et dans une quantité non négligeable. Ces cellules sont des globules blancs produits dans la moelle osseuse et sont immatures, elles passent dans le sang dans le cas d'un cancer de la moelle et prolifèrent rapidement. L'échantillon étudié ne possédait aucun blaste au premier jour d'analyse, il est impossible que des cellules immatures produites uniquement dans la moelle soient apparues durant les 3 jours. Ainsi, l'automate se trompe sur la détection de ces cellules. Après recherches, il s'avère que les cellules comptées en blastes sont en réalité des débris cellulaires (cellules mortes) qu'il considère être des blastes.

² Les tubes utilisés sont visibles en *Figure 5- Tubes prélevés* et *Figure 6- Tube centrifugé*.

Nous avons ainsi la réponse à l'une de nos questions notamment : un échantillon ayant attendu avant analyse présentera-t-il un résultat différent ? La réponse est oui : des cellules vont mourir et d'autres proliférer (plaquettes), modifiant ainsi la formule de l'échantillon, pouvant même aiguiller le diagnosticien vers un cancer de la moelle osseuse. Nous observons également des résultats étonnants d'un jour sur l'autre : nous pouvons notamment voir au troisième jour, des résultats qui ont varié de manière assez importante du matin au soir. Il ne devrait pourtant pas y avoir d'écarts si importants au cours de la journée pour ces paramètres. Nous avons ainsi mis en évidence des erreurs d'analyse de l'automate ou du moins sa limite de précision. Cependant, ces écarts semblent rares, nous pouvons observer la stabilité des autres résultats, ou du moins leur cohérence, il est donc possible que l'échantillon n'ait pas été correctement homogénéisé avant une analyse du troisième jour, ne nous permettant ainsi plus de considérer le milieu prélevé comme homogène.

Nous allons à présent analyser les résultats des analyses des tubes prélevés quotidiennement. Nous cherchons avec ce suivi à mettre en évidence le fait suivant : notre sang n'a pas la même formule tous les jours et ce, à cause de notre activité, alimentation... Est-il alors possible que des résultats d'analyse soient suffisamment différents d'un jour à l'autre pour que le jour de prélèvement influe sur le diagnostic rendu ?

Nous pouvons, en observant la partie « suivi journalier » de notre tableau de valeurs, constater que les résultats varient ici bien plus que lors de l'analyse précédente. Nous voyons par exemple une augmentation des globules blancs sur les trois jours, je devais être sur le début d'une infection et mon organisme devait se défendre. Il y a également un creux le second jour au niveau des globules rouges : suite aux deux prises de sang consécutives, mon organisme devait avoir perdu quelques globules et n'avait pas encore eu le temps de les régénérer ; le troisième jour, de nouveaux globules ont dû être produits, au vu des résultats. Il y a également une baisse du volume globulaire moyen : de nouvelles cellules étant produites, celle-ci sont encore jeunes et donc de volume plus réduit, ce qui explique cette baisse. Concernant les autres paramètres, notamment la différenciation des globules blancs, l'ensemble des résultats reste cohérent, mais les valeurs sont tout de même variables de 2 à 20% de variation, ce qui n'est pas négligeable. Nous pouvons alors nous demander si ces résultats sont dus à l'incertitude des automates ou à des causes naturelles faisant changer légèrement notre sang en permanence. Afin de répondre à cette question, une autre étude a été réalisée : le même échantillon a été analysé à 5 reprises consécutives sur chaque DXH afin de chercher les incertitudes de ces automates.

Les résultats de cette étude sont disponibles en [Figure 8- Incertitudes DXH](#), nous pouvons ainsi voir, comme nous nous y attendions des écarts entre les différentes valeurs. De plus, les deux appareils semblent avoir des moyennes différentes : les automates sont calibrés tous les matins, et nous pouvons ici observer ce que la calibration implique comme résultats ; les appareils n'ayant visiblement pas les mêmes valeurs de référence, leurs résultats sont différents. Impossible cependant de dire lequel se rapproche le plus d'une valeur réelle. Le tableau suivant représente les calculs d'écarts-types et d'écarts à la moyenne en pourcentage pour les analyses successives.

Ecart types :		moyennes :	Pourcentage d'écart
GB	0,13	7,04	1,80
GR	0,05	5,21	0,93
HB	0,14	15,34	0,93
Ht	0,31	46,81	0,66
VMP	0,16	9,41	1,70
VMC	0,57	89,85	0,63
PLT	3,37	187,60	1,80
NE	1,00	44,42	2,26
LY	1,06	39,63	2,68
MO	0,39	6,00	6,53
EO	0,39	9,22	4,21
BA	0,13	0,73	17,15
NE#	0,09	3,11	2,82
LY#	0,09	2,79	3,14
MO#	0,05	0,43	11,23
EO#	0,05	0,63	7,67
BA#	0,05	0,05	105,41
ERB	0,07	0,14	49,94
ERB#	0,01	0,01	51,60

Grâce à ce tableau, nous constatons que pour la première partie qui ne prend donc pas en considération la différenciation des globules blancs, les résultats sont excellents. Moins de 2% d'écart à la moyenne sur 10 analyses démontre une grande fiabilité de résultats. En revanche, les blancs sont différenciés de manière bien moins précise : l'incertitude oscille entre 2% et presque 20%. Il est cependant important de noter que d'autres imprécisions plus importantes sont présentes mais ne sont pas représentatives : en effet nous sommes aux limites de détection de l'automate et pour des quantités dérisoires. Il est normal de voir ici des écarts à la moyenne bien plus significatifs, comme il a été dit lors de la présentation du pôle d'hématologie, les DXH ne sont pas aussi fiables que le CytoDiff pour la différenciation des cellules, nous en retrouvons l'exemple ici.

Au vu des résultats de ces différentes études, il est possible de penser que l'incertitude des mesures des DXH est négligeable comparée aux écarts de composition du sang d'un jour à l'autre. Il n'y a donc pas de raison pour qu'un automate bien calibré et contrôlé fausse un résultat par son imprécision.

Nous avons vu les études faites sur le pôle d'hématologie, les mêmes procédés ont été mis en place sur l'archi8200, responsable des analyses chimiques. En revanche il m'a été impossible de réaliser un test de précision sur 10 analyses, l'appareil prenant 20min pour un bilan chimique complet.

Dans les deux tableaux suivants, nous pouvons voir les suivis d'analyses réalisées selon le même procédé que précédemment :

Analyses tube J 1				unités	Analyses Tube du jour			
	J1	J2	J3		J1	J2	J3	
Cl	108	107	107	mmol/L	108	105	105	Cl
Na	143	140	141	mmol/L	143	140	140	Na
K	4,3	4,44	4,53	mmol/L	4,3	4,24	4,32	K
AlbP	47,7	47,3	48,4	g/L	47,7	46,9	48,9	AlbP
ALT	8	7	8	U/L	8	8	11	ALT
AST	14	15	15	U/L	14	14	17	AST
Bili D	1,5	1,3	1,1	mg/L	1,5	2	2	Bili D
Bili T	4	3,1	2,6	mg/L	4	4,9	4,6	Bili T
Ca	101	100	100	mg/L	101	99	101	Ca
Chol	1,52	1,52	1,52	g/L	1,52	1,54	1,52	Chol
CO ₂	27	23,6	20,9	mmol/L	27	28,6	25,4	CO ₂
CrEnz	8,5	8,5	8,5	mg/L	8,5	8,5	8,4	CrEnz
CRP	0,2	0,2	<0,2	mg/L	0,2	0,2	0,2	CRP
GGT	10	10	11	U/L	10	10	12	GGT
Glu	0,89	0,88	0,87	g/L	0,89	0,76	0,93	Glu
HDL	0,43	0,44	0,45	g/L	0,43	0,49	0,46	HDL
LDH	148	161	159	U/L	148	147	156	LDH
Mg	20,6	20,5	20,6	mg/l	20,6	20,8	21,6	Mg
PAL	55	55	58	U/L	55	51	56	PAL
Phos	40,7	41	41,3	mg/L	40,7	43,1	43,2	Phos
PreAlb	0,28	0,27	0,28	g/l	0,28	0,27	0,29	PreAlb
Prot	74,5	74,1	74,2	g/l	74,5	72,5	76,4	Prot
Trig	2,15	2,15	2,16	g/l	2,15	1,58	1,08	Trig
Uree	0,25	0,25	0,25	g/l	0,25	0,26	0,34	Uree

Nous pouvons constater que sur trois jours, les résultats d'un même échantillon restent assez constants et ne se détériorent pas trop. Nous pouvons citer le CO₂ dissous qui lui, chute très rapidement. De même, les bilirubines T et D chutent rapidement. Il s'agit là des seuls paramètres subissant une réelle variation lors de ces 3 jours de détérioration.

Les composés chimiques semblent donc plus stables que les cellules vivantes hors de notre corps, il serait donc possible d'obtenir des résultats d'analyse satisfaisants même sur un tube assez vieux. Le cholestérol par exemple reste parfaitement conservé dans le sérum, faire attendre son analyse de sang ne semble donc pas être la solution pour baisser son cholestérol aux yeux de son médecin...

Nous allons à présent nous pencher sur les analyses réalisées sur les tubes prélevés le jour même et voir que les conclusions établies précédemment s'appliquent également au cas de la chimie.

Comme nous pouvions nous en douter, la composition chimique de notre sang varie de manière notable d'un jour à l'autre, notre alimentation étant une des sources majeures de ces changements. Le triglycéride notamment a connu de très grands changements lors de cette étude : chutant de 50% en l'espace deux jours, ce qui est plus que conséquent. De plus, la valeur révélée le premier jour était supérieure aux valeurs normales attendues, ce qui a entraîné une alerte sur la feuille de résultats, les jours suivants cette alerte était absente.

Lors de cette étude donc, nous avons réussi à mettre en évidence deux conclusions : il est possible d'arriver à des diagnostics différents à seulement un ou deux jours d'intervalle, et le protocole expérimental doit être respecté : une mauvaise manipulation d'un tube (mauvaise centrifugation, agitation insuffisante, délai de transport trop important...) ou un non-respect des règles d'analyses par le patient (jeun de 12h avant analyse) peuvent entraîner un diagnostic faux ou ne correspondant pas au véritable problème de santé du patient. Il est de plus important de signaler que les échantillons analysés ont été conservés en chambre froide, limitant ainsi l'action de la chaleur. Un tube oublié dans une voiture de coursier par exemple sera très rapidement inutilisable à cause de la chaleur qui aura modifié sa chimie ou sa composition cellulaire.

Au vu des résultats des études que nous avons réalisées durant ce stage, nous pouvons dire que les automates employés sont d'une grande précision. Ceux-ci permettent d'obtenir des résultats précis, rapides et surtout de libérer le technicien pour lui permettre de procéder à d'autres analyses ou à des validations de résultats. Il faut cependant se souvenir qu'un automate reste une machine : celui-ci demande le respect d'un protocole précis et exigeant. La moindre entorse à l'une de ses règles et l'appareil peut fausser les résultats ou ne plus fonctionner convenablement, ralentissant alors le rythme du laboratoire tout entier.

Il semble donc évident que les protocoles expérimentaux employés et l'utilisation d'automates est, aujourd'hui, pour un laboratoire de la taille d'Ax Bio Ocean, un impératif ainsi qu'un besoin pour permettre de respecter les contraintes et exigences liées aux patients : rendre des diagnostics dans la journée sans que les analyses n'en pâtissent.

Il est donc important de sensibiliser les techniciens aux différences que peuvent entraîner certaines manipulations précipitées : un diagnostic peut être compromis par un geste aussi simple qu'une agitation manuelle d'un tube, permettant de l'homogénéiser. Enfin, les automates resteront précis et fiables du moment qu'ils sont correctement calibrés, maintenus et contrôlés. Ces études de qualité sont réalisées une à deux fois par jour sur chaque appareil, garantissant ainsi une efficacité optimale de l'automate.

VI. CONCLUSION

Ce stage a été plus que formateur mais également assez difficile d'accès : j'ai pu me rendre compte du changement que la profession de technicien de laboratoire avait connu ces dernières années, et ce en raison du regroupement des laboratoires et suite à l'augmentation de l'utilisation d'automates dans presque tous les services du laboratoire. Ainsi, ce travail initialement manuel est devenu presque totalement assisté par ordinateur : les techniciens valident le travail de machines mais ne manipulent presque jamais directement. Cependant leur formation est essentiellement technique. Le BTS de sciences et techniques de laboratoire ayant formé nombre des techniciens du groupe axe sa formation sur l'apprentissage des protocoles expérimentaux manuels. Il y a donc dans cette profession un réel monde entre ce que les étudiants en formation apprennent et leur quotidien au plateau technique après leur embauche.

Cette utilisation presque massive d'automates entraîne plusieurs incidences sur les analyses : plus de tubes peuvent être traités et avec moins de personnel. Cela permet évidemment un gain de temps et donc de productivité, mais aussi un gain d'argent. Il ne faut pas oublier que le laboratoire est une entreprise privée, qui doit payer ses salariés et faire des bénéfices. L'utilisation de machines permet sur le long terme de rentabiliser leur achat en remplaçant des postes de techniciens. De plus, ces appareils sont réglés pour rendre des résultats calibrés et en suivant exactement le même protocole à chaque fois. Ceci permet un meilleur gage de qualité, en effet les analyses sont plus facilement contrôlables et les erreurs de manipulations sont moins fréquentes.

J'ai par le biais de ces deux mois d'observation eu la chance d'étendre mes connaissances scientifiques, essentiellement en biologie cellulaire et dans le domaine médical. Cette ouverture me sera, j'en suis sûr, bénéfique par la suite, que ce soit pour ma simple culture ou professionnellement. En revanche, je ne pense pas qu'il y ait une place pour un chimiste dans un tel laboratoire : il pourrait appliquer des protocoles d'analyse mais ne serait pas capable d'interpréter ses résultats ou de comprendre le sens scientifique des protocoles qu'il réalise.

Enfin, malgré tous les bénéfices des automates par rapport aux techniciens, il ne faut pas oublier que ceux-ci ne sont pas infallibles. Il leur arrive de tomber en panne, et c'est alors tout le laboratoire qui s'en trouve touché et demeure impuissant. Nous nous pencherons plus en détails sur cet aspect lors de la présentation orale venant avec ce dossier, et verrons l'impact négatif qu'un automate a également sur les sites d'analyses.

UFR Sciences & Techniques Côte Basque

Université de Pau et des Pays de l'Adour

Licence Physique-Chimie

REFERENCES

Stage effectué du 11 Avril au 11 Juin 2016 à

AX BIO OCÉAN
28 Rue du colonel Melville Lynch
64600 – ANGLET

Sous la direction scientifique de Mme Isabelle GARNIER.



- Tests des automates :

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2847201/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15963793>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3044820/>

<https://www.researchgate.net/publication/45706872> The new haematology analyzer DxH 800 An evaluation of the analytical performances and leucocyte flags comparison with the LH 755

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19929270>

- Documents étudiés :

Livret du nouvel arrivant au laboratoire Ax Bio Ocean

Documentation et manuels des automates étudiés

Fiches descriptives des protocoles à réaliser

Cours de 2nd année de BTS Biomédecine

UFR Sciences & Techniques Côte Basque

Université de Pau et des Pays de l'Adour

Licence Physique-Chimie

ANNEXES

Stage effectué du 11 Avril au 11 Juin 2016 à

AX BIO OCÉAN
28 Rue du colonel Melville Lynch
64600 – ANGLET

Sous la direction scientifique de Mme Isabelle GARNIER.



Figure 1 – Suivi Tube

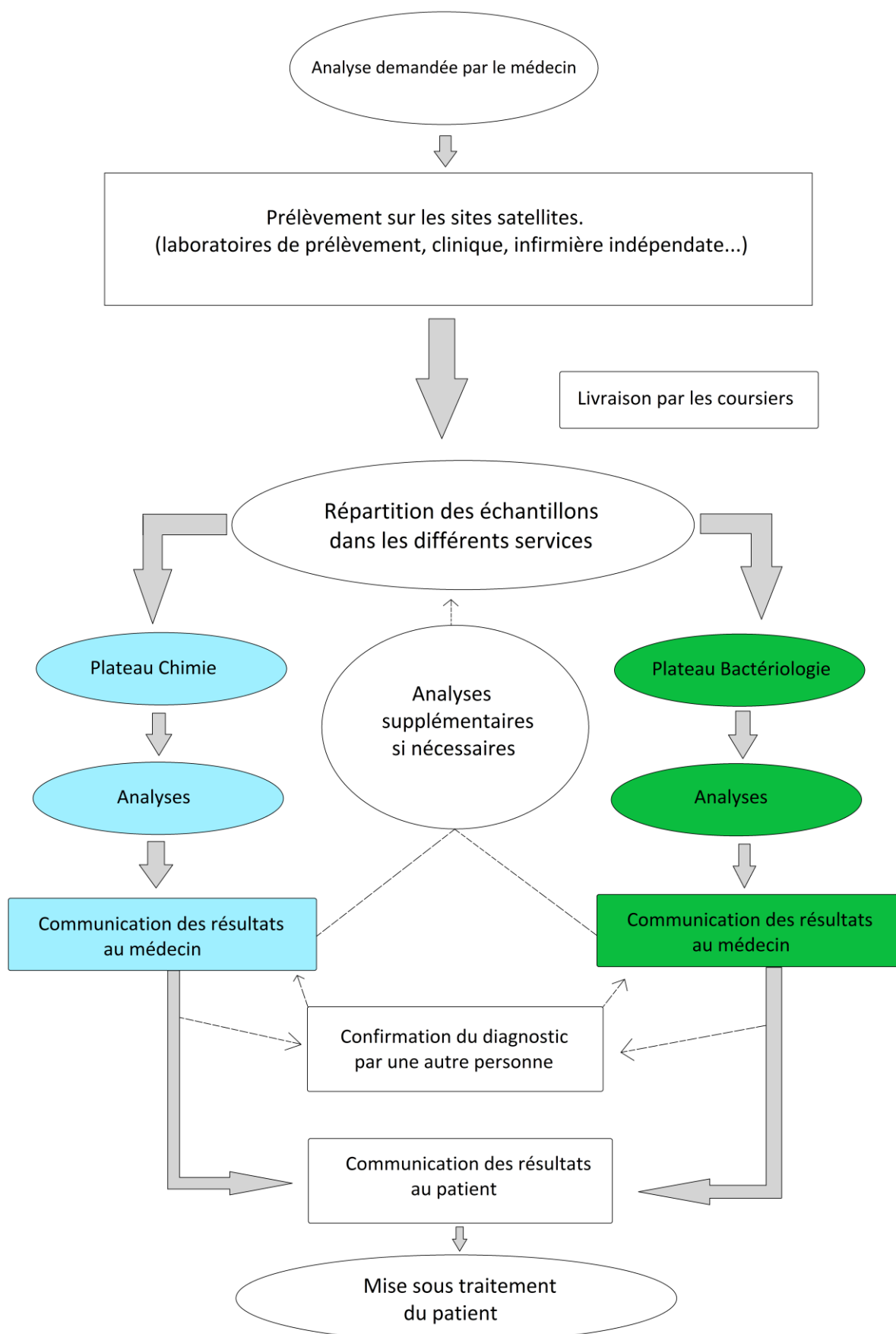


Figure 2- Graphiques CytoDiff

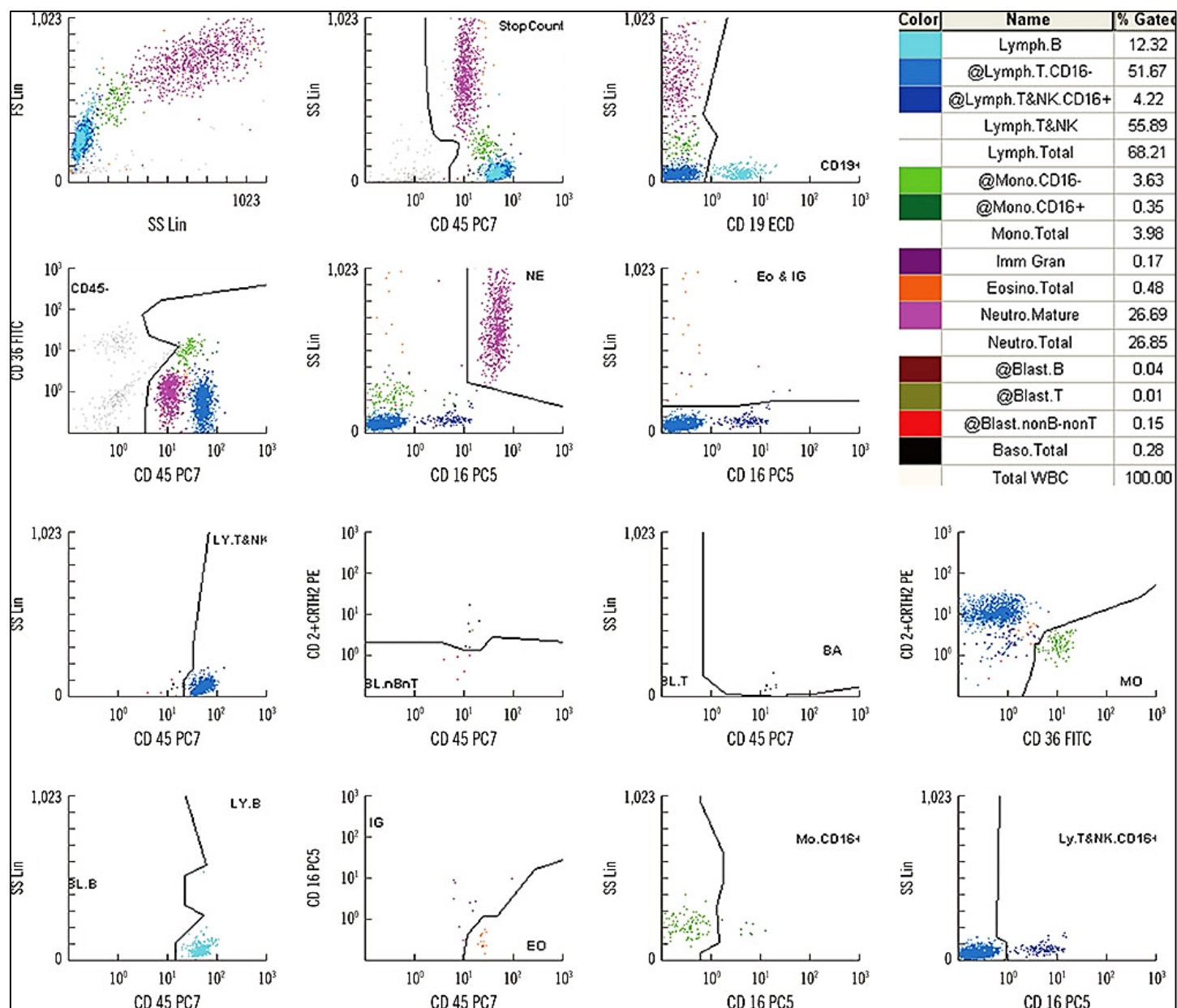


Figure 3- Tubes Hémato/Coag



Figure 4- Pôle Hématologie



De gauche à droite : AliFax x2 – SMS - DXH x2 - Préparateur du CytoDiff – CytoDiff

Figure 5- Tubes prélevés

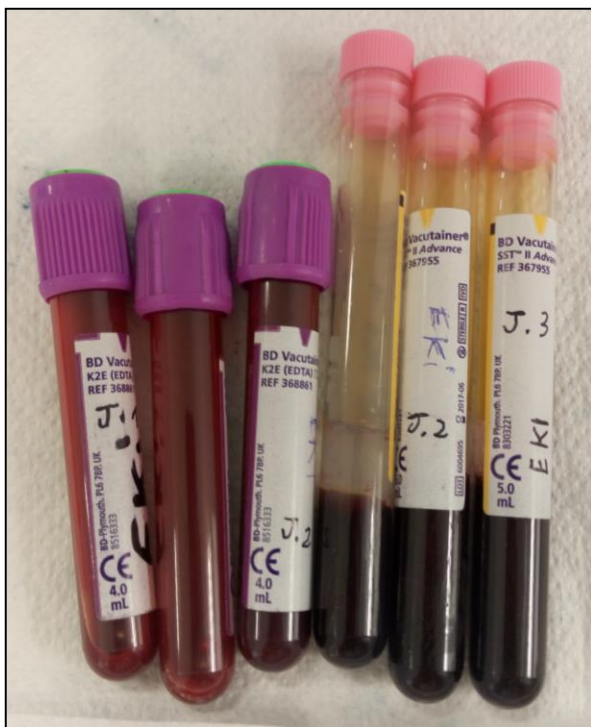


Figure 6- Tube centrifugé



De haut en bas :
Sérum, gel, amas globulaire

Figure 7- Suivi journalier Hémato

Test	Suivi tube J1						Suivi journalier						Unités
	J1 matin	J1 soir	J2 matin	J2 soir	J3 matin	J3 soir	J1 matin	J1 soir	J2 matin	J2 soir	J3 matin	J3 soir	
Globules Blancs	6,3	6,3	6,3	6,5	6,5	6,4	6,3	6,3	6,6	6,8	6,8	7,1	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Globules Rouges	5,24	5,16	5,1	5,04	4,99	4,98	5,24	5,16	5,11	5,03	5,21	5,23	$\times 10^6/\mu\text{L}$
Hémoglobine	15,5	15,3	15,1	14,9	15	15,1	15,5	15,3	15,1	14,9	15,3	15,5	g/dL
Hématocrite	47,1	46,7	46,1	45,5	45,7	45,5	47,1	46,7	45,7	45,1	46,2	46,5	%
Volume Plaquettaire	9,3	9,9	10,1	10,1	10,5	10,3	9,3	9,9	9,3	9,6	9,3	9,6	fL
Volume Globulaire	89,9	90,5	90,5	90,3	91,5	91,4	89,9	90,5	89,5	89,7	88,8	88,9	fL
Plaquettes	191	207	200	211	214	214	191	207	181	195	187	193	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Neutrophiles	42,6	41,2	42,6	41,6	44,3	42,9	42,6	41,2	43,7	44,2	42,5	44	%
Lymphocytes	40,1	41,2	40,6	40,3	40,5	39,5	40,1	41,2	40,8	40,6	40,6	40,4	%
Monocytes	6,2	5,9	5,6	6,3	4,3	5,2	6,2	5,9	5,9	6,4	6,2	6,2	%
Eosinophiles	10,4	10,7	10,1	10,6	10,5	10,8	10,4	10,7	8,6	8,2	9,8	8,8	%
Basophiles	0,7	1	1,3	1,2	0,4	1,6	0,7	1	1	0,6	0,9	0,6	%
# Neutrophiles	2,7	2,6	2,7	2,7	2,9	2,8	2,7	2,6	2,9	3	2,9	3,1	$\times 10^3/\mu\text{L}$
# Lymphocytes	2,5	2,6	2,5	2,6	2,6	2,5	2,5	2,6	2,7	2,7	2,8	2,9	$\times 10^3/\mu\text{L}$
# Monocytes	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	$\times 10^3/\mu\text{L}$
# Eosinophiles	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	0,6	$\times 10^3/\mu\text{L}$
# Basophiles	0	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1	0,1	0	0,1	0	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Erythroblastes	0	0,1	0,1	0,2	0,3	1,3	0	0,1	0,1	0,2	0	0,2	/1000Lkc
# Erythroblastes	0	0	0	0,01	0,02	0,08	0	0	0,01	0,02	0	0,02	$\times 10^3/\mu\text{L}$

Suivi tube J1 : Analyse quotidienne du tube prélevé le premier matin et suivi de son vieillissement.

Suivi journalier : Analyse du tube prélevé le jour même.

Figure 8- Incertitudes DXH

Test	Résultats DXH 1					Résultats DXH 2					Unités
	1er Passage	2nd Passage	3eme Passage	4eme Passage	5eme Passage	1er Passage	2nd Passage	3eme Passage	4eme Passage	5eme Passage	
GB	6,9	7	7,1	7	7,2	7,2	6,8	7,1	7,1	7	$\times 10^3/\mu\text{L}$
GR	5,16	5,23	5,23	5,25	5,28	5,17	5,13	5,22	5,17	5,25	$\times 10^6/\mu\text{L}$
HB	15,4	15,4	15,5	15,5	15,5	15,1	15,2	15,2	15,3	15,3	g/dL
Ht	46,3	46,7	47,1	46,9	47	46,8	46,5	47,3	46,5	47	%
VMP	9,6	9,5	9,3	9,6	9,6	9,3	9,2	9,2	9,4	9,4	fL
VMC	89,7	89,3	90,1	89,4	89	90,4	90,7	90,5	89,9	89,5	fL
PLT	187	187	189	195	189	186	183	185	185	190	$\times 10^3/\mu\text{L}$
NE	43,2	43,4	43,9	44,7	43,1	44,7	44,5	45,1	45,6	46	%
LY	41	40,5	40,8	40	40,5	38,4	39,1	39	39	38	%
MO	5,7	6,6	5,9	5,5	6,5	6,4	6,1	6	5,6	5,7	%
EO	9,3	8,8	8,7	9,3	9	9,9	9,6	9	9	9,6	%
BA	0,8	0,7	0,7	0,5	0,9	0,6	0,7	0,9	0,8	0,7	%
NE#	3	3	3,1	3,1	3,1	3,2	3	3,2	3,2	3,2	$\times 10^3/\mu\text{L}$
LY#	2,8	2,8	2,9	2,8	2,9	2,8	2,6	2,8	2,8	2,7	$\times 10^3/\mu\text{L}$
MO#	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	$\times 10^3/\mu\text{L}$
EO#	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	$\times 10^3/\mu\text{L}$
BA#	0,1	0,1	0	0	0,1	0	0	0,1	0,1	0	$\times 10^3/\mu\text{L}$
ERB	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	/1000Lkc
ERB#	0	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	$\times 10^3/\mu\text{L}$

Dans le cadre d'un stage en entreprise de deux mois lors de la 3e année de licence de physique chimie, une étude en laboratoire d'analyse de sang a été réalisée. Celle-ci cherchant à mettre en évidence l'importance du choix des protocoles expérimentaux au sein du laboratoire ainsi que l'impact de ces protocoles sur les diagnostics rendus.

Pour satisfaire cette étude, un suivi sur plusieurs jours, d'échantillons sanguins a été réalisé. De plus, les incertitudes des automates employés ont été estimées afin de chercher à comprendre quelle importance ces valeurs ont sur le diagnostic.

Les analyses ont révélé que les automates étaient extrêmement précis, du moment que le protocole expérimental qui leur est associé est respecté à la lettre. En effet, l'incertitude de la machine est négligeable comparé aux modifications que notre sang subit naturellement d'un jour à l'autre.

Enfin, ce stage a permis de mettre en évidence l'importance du conditionnement des échantillons avant analyse, afin d'éviter de fausser les résultats voir même de rendre un diagnostic inexact.

Réalisé au laboratoire Ax Bio Ocean, ce stage et ce dossier n'engagent en rien la direction du laboratoire ou de l'université de Pau et des pays de l'Adour.

This document is the result of a university training project in a blood analysis laboratory. It has been made in the third year of license, and aims at explaining the importance of experimental protocols in the laboratory as well as their impacts on diagnostics.

To complete this goals, blood samples were collected and analyzed over a few days to try to point out robots inaccuracy ranges as well as the impact of bad sample conservation on final analysis results.

This study managed to demonstrate that robots are really accurate if they are programed and used correctly. The units' inaccuracy is indeed less important than the variation of our blood structure from one day to another. That's why we can actually not consider this inaccuracies of measurements.

Finally, this stage revealed that the way to conserve the samples is very important, as the analysis of an old sample can lead to a wrong diagnostic and threaten the life of the patient.

This training occurred in Ax Bio Ocean laboratories and this document can't be used against the direction of the laboratory or of the university.