|  |
| --- |
| [Nom de la société] |
| [Sous-titre du document] |

|  |
| --- |
| Chancelle Sossouhounto  [Date] |

**PLAN**

**Détermination qualitative des anticorps anti Treponema pallidum**

**But**

Le TPHA est un test biologique utilisé pour mettre en évidence une infection par le Treponema pallidum, agent de la syphilis

**Principe**

TPHA est un test d’hémagglutination indirecte sur microplaque pour la détection qualitative et semi quantitative des anticorps spécifiques anti Treponema pallidum dans le serum humain ou plasma . Les hématies aviaires stabilisées et sensibilisées avec une solution antigénique de T. pallidum s’agglutinent en présence d’anticorps anti T. pallidum pour donner une agglutination caractéristique.

**Mode Opératoire**

Méthode qualitative

1. Attendre que les résultats et les échantillons atteignent la température ambiante
2. Diluer le serum au 1/20 avec le diluant(10/190µl)
3. Pipeter dans 02 puits adjacents distincts de la microplaque

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Serum au 1/20 ou contrôle +/- | 25 | 25 |
| Cellules contrôle (µl) | 75 |  |
| Cellules test (µl) |  | 75 |

1. Agiter doucement la microplaque jusqu’à l’homogénéisation complète du mélange réactionnel
2. Couvrir la microplaque et incuber à température ambiante pendant 45 -60min
3. Réaliser l’examen macroscopique du profil d’agglutination des cellules

**Matériel**

1. Réactif

R1 : cellule test

Hématies aviaires stabilisées et sensibilisées avec des antigènes T. pallidum

R2 : cellules contrôles

Suspension d’hématies aviaires stabilisées

R3 : Diluant

Tampon phosphates extraits de T. pallidum

Contrôle + : serum humain immunisé pré dilué au 1/20

Contrôle : serum animal

1. Microplaque
2. Micropipette
3. Cône

**Résultats**

Après utilisation du contrôle négatif, on observe l’apparition des points rouge au niveau des puits utilisés

**Détermination du taux d’hématocrite**

**But**

Déterminer le volume des globules rouges par rapports au volume du sang total ,pour savoir rapidement s’il existe une anémie ou une polyglobulie

**Principe**

Séparer les globules rouges du plasma en centrifugeant le sang total pendant un temps déterminé. Lors de la centrifugation , sédimente au fond du tube , le plasma reste au dessus

**Matériel**

* Tube à hématocrite
* Pate à modeler
* Centrifugeuse à tube

**Mode Opératoire**

* Plonger l’extrémité du tube à hématocrite dans le tube du sang bien mélangé
* Laisser le sang monter
* Fermer une extrémité du tube avec de la pate à modeler
* Placer le tube dans la centrifugeuse
* Centrifuger 10min à 3000 tours/mn

**Résultats**

**Confection de fottis sanguin**

**But**

Le frottis sanguin permet d’observer la morphologie des globules rouges ; d’établir la formule leucocytaire : différents types de leucocytes et pourcentage de chacun . Enfin d’observer les plaquettes

**Principe**

Préparer un étalement mince d’une goutte de sang sur une lame de verre, après coloration approprié, le frottis est observé au microscope avec l’objectif en utilisant l’huile à immersion.

**Matériel**

* Lame
* Lamelle ou lame à bords rodés
* Méthanol
* Giemsa
* Microscope
* Alcool
* Papier hygiénique

**Mode Opératoire**

* Dégraissées la lame en utilisant l’alcool et le papier hygiénique
* Déposer une goutte de sang sur la lame
* Placer le bord de la lame rodée ou de la lamelle sur la lame et la faire glisser jusqu’à ce quelle entre en contact avec la goutte, en maintenant un angle de 45°
* D’un mouvement souple et régulier , étaler la goutte de sang
* Laisser sécher
* Fixer le frottis avec le méthanol
* Laisser sécher
* Colorer avec le Giemsa le frottis pendant 15min
* Rincer
* Laisser sécher
* Passer à la lecture à l’objectif 100 en utilisant l’huile à immersion

**Résultats**