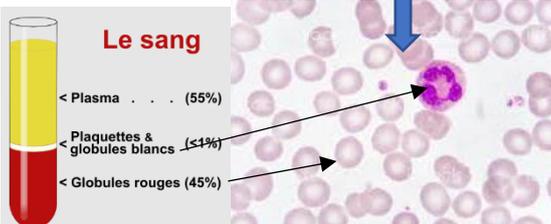
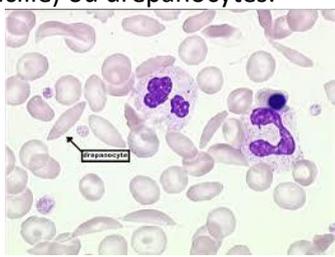


TP 01 Réalisation d'un frottis sanguin

Rappel du contexte de votre recherche : Vous travaillez au sein d'une équipe médicale dans un grand hôpital de la région bordelaise. Deux très jeunes patients, jumeaux, sont arrivés le matin dans votre service. Ils présentent des troubles tels que très grande fatigue, fièvre, essoufflement, douleur articulaire. **Vous suspectez une maladie, la drépanocytose. Vous décidez d'effectuer un prélèvement de sang afin de réaliser un frottis sanguin.**

- **On cherche donc à vérifier dans le sang des patients la présence éventuelles de cellules sanguines anormales et de déterminer ainsi le phénotype cellulaire.**

Documents ressources	
<p>Le sang est un tissu comportant une partie liquide et des cellules sanguines dont des globules rouges ou hématies et des globules blancs ou leucocytes. Ces cellules sont observables au microscope optique (x600).</p> 	<p>Dans le cas d'une drépanocytose avérée, les hématies sont déformées, elles sont appelées hématies falciformes (en forme de faucille) ou drépanocytes.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p>Frottis sanguin d'un individu drépanocytaire On note la présence d'hématies, de leucocytes. La drépanocytose s'observe donc à l'échelle cellulaire, on parle de phénotype cellulaire.</p> </div> 

Etape A Proposer une stratégie de résolution et mettre en œuvre un protocole

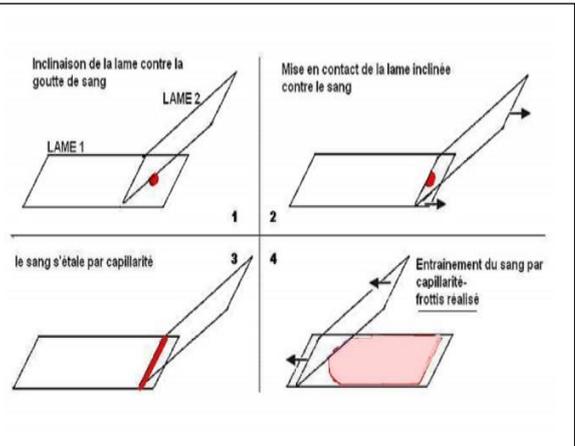
Proposer une stratégie de résolution réaliste, permettant de vérifier si les deux jeunes enfants présentent un phénotype cellulaire drépanocytaire.

Protocole

Vous disposez du matériel suivant :
 -microscope optique, lames, lamelles
 - colorants (permet de colorer les noyaux des leucocytes)
 - échantillon de sang d'un témoin sain
 - frottis sanguins des deux jumeaux
 - caméra numérique

Réalisation du frottis sanguin

1. **Nettoyer** 2 lames à l'alcool (faces et tranches), les **sécher** avec du papier absorbant, les **déposer** sur papier absorbant.
2. **Prélever**, une goutte de sang à l'aide du compte-goutte.
3. **Déposer** la goutte de sang à l'extrémité d'une lame (figure 1).
4. **Appliquer** une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité. (figure 2 et 3).
5. **Faire glisser** la lame inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte. (figure 4).
6. **Sécher** le frottis avec le sèche-cheveux.
7. **Repérer** au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang.



ATTENTION : le sèche-cheveux ne doit pas être placé trop près du frottis (minimum 20 cm)

Sécurité



Coloration :

1. Aligner devant soi, dans l'ordre, les trois flacons : Flacon 1 = fixateur (incolore), Flacon 2 = colorant orange, Flacon 3 = colorant bleu.
2. Plonger la lame dans le 1^{er} flacon pendant 6 s puis égoutter verticalement sur du papier absorbant.
3. Procéder comme à l'étape 2 pour les colorants (flacon 2 puis flacon 3)
4. Rincer la lame en l'arrosant **délicatement** avec la pissette d'eau distillée au dessus de l'évier (attention, faire couler doucement sur la lame sinon, vous risquez d'arracher le frottis)
5. Egoutter sur papier absorbant puis sécher la lame au sèche-cheveux.
6. Observer au microscope sans lamelle (bien repérer la face F où se trouve le sang).

Etape B Communiquer et exploiter les résultats

Sous la forme de votre choix, présenter vos résultats et exploiter les résultats (« je vois que », « je sais que », je conclus »)