

<b>SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO</b>		
<b>MODE OPERATOIRE</b>	<b>Codification : MP11/01</b>	<b>Date révision :14182</b> <b>Indice révision : f</b>
<b>HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE</b>		<b>Fiche : 3</b> <b>Page : 1/24</b>

## OBJET

Décrire la procédure à suivre pour le marquage des hématies au technétium et la détermination du volume globulaire.

## CONTENU

### Préambule :

En parallèle à la mesure du volume globulaire du patient, on détermine simultanément le volume d'un ballon jaugé de 2000 litres. Cette mesure est utilisée pour le calcul du volume globulaire sur le tableau Excel mais elle sert aussi comme contrôle de la 2<sup>ème</sup> méthode. La réalisation est identique à celle décrite ci-dessous pour le volume globulaire hormis le fait que le contenu de la suspension marquée est injecté dans le ballon partiellement rempli avec une solution de NaCl 0,9%. Après l'introduction de la suspension de GR marqués, le ballon est complété au trait de jauge avec la solution de NaCl 0,9% et **homogénéisé par retournements** puis avec un **barreau magnétique**. Des prélèvements de 1 mL (n = 8) sont effectués et les comptages sont réalisés de façon identique aux autres tubes. Le calcul du volume du ballon utilise la formule :

$$V = \frac{\text{Activité injectée dans le ballon}}{\text{Activité moyenne des 8 prélèvements}}$$

Les résultats sont rassemblés dans le dossier EB11/04,1d.

### **1 – REACTIFS ET MATERIEL**

- 1 Trousse TechneScan PYP<sup>®</sup> (Mallinckrodt)
- 1 Héparine Choay 25 000 UI/5 mL (Sanofi Synthélabo, France)
- 5 NaCl 0,9% solution injectable, ampoules de 10 mL
- 1 seringue à insuline
- 1 seringue de 20 mL
- 4 seringues de 10 mL
- 4 seringues de 5 mL
- 1 seringues de 2 mL
- 6 seringues de 1 mL
- 12 aiguilles de 23 G
- 6 aiguilles de 19 G
- 1 aiguille de 18 G
- 3 tubes de 5 mL Falcon stériles, apyrogènes en emballage individuel
- 23 tubes à hémolyse de 5 mL
- 2 flacons d'élution de 10 mL (CONT-ELU, IBA)
- 3 pipettes Falcon de 2 mL (code 1951501, réf. 356507)
- 5 tubes de 14 mL Falcon stérile, apyrogène

<b>Destinataires : 1, 2, L</b>		
<b>Rédaction :</b> Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	<b>Validation:</b> Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	<b>Approbation :</b> Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 2/24

## 2 – PATIENT

Le patient doit être étendu au minimum 30 minutes avant et pendant l'épreuve.

Des consignes sont appliquées par les secrétaires pour la prise de RDV :

- de préférence le vendredi (1 seul examen à la fois)
- convocation pour 8h
- demander au patient de venir avec ses derniers examens de laboratoire notamment numération formule sanguine (de préférence < 1 mois).
- si possible avoir le dossier du patient ou lettre d'accompagnement du demandeur
- vérifier que le patient n'a pas eu d'examen ou de traitement en médecine nucléaire dans les jours précédents.
- prévenir le patient que l'examen dure environ 3 h 00
- prévenir le patient qu'il ne doit pas être nécessairement à jeûn mais déjeuner léger (éviter les graisses).

## 3 – METHODES

Les règles d'hygiène doivent être strictement observées. Le marquage est effectué dans la hotte à flux laminaire.

Respecter les précautions « standards » lors de tout risque de contact avec le sang (Circulaire DGS/DH n°. 98-249 du 20 avril 1998)

Noter le déroulement du marquage sur le cahier et/ou fichier EP11/01,1 (pièce des marquages cellulaires 3B-1-030).

### 3.1 Prélèvement

Prélever 150 µL d'héparine à l'aide d'une seringue à insuline et les introduire dans une seringue de 20 mL (*la dose recommandée est de 0,5 à 2 UI/mL de sang prélevé*). Munir cette seringue d'une aiguille 19 G et la porter au guichet. Quinze millilitres de sang seront prélevés par la MER et ramenés dans le sas de la pièce des marquages cellulaires (3B-1-030).

Prélever 1 tube vacutainer bouchon vert (héparine) pour mesure de l'hématocrite veineux (Cf. annexe).

### 3.2 Préparation du sang hépariné

Repartir 3 mL de sang hépariné dans 3 tubes Falcon de 5 mL.

### 3.3 Préparation du PYP pour le marquage

Reconstituer le lyophilisat dans le flacon PYP par 10 mL de NaCl 0,9% (si possible sans utiliser d'aiguille de mise à l'air : retirer préalablement 5 mL « d'atmosphère » pour éviter la surpression et ajouter 2x5mL de NaCl 0.9%).. Dans l'enceinte, agiter vigoureusement le flacon à la main pendant 1mn 30 jusqu'à la dissolution complète de la poudre.

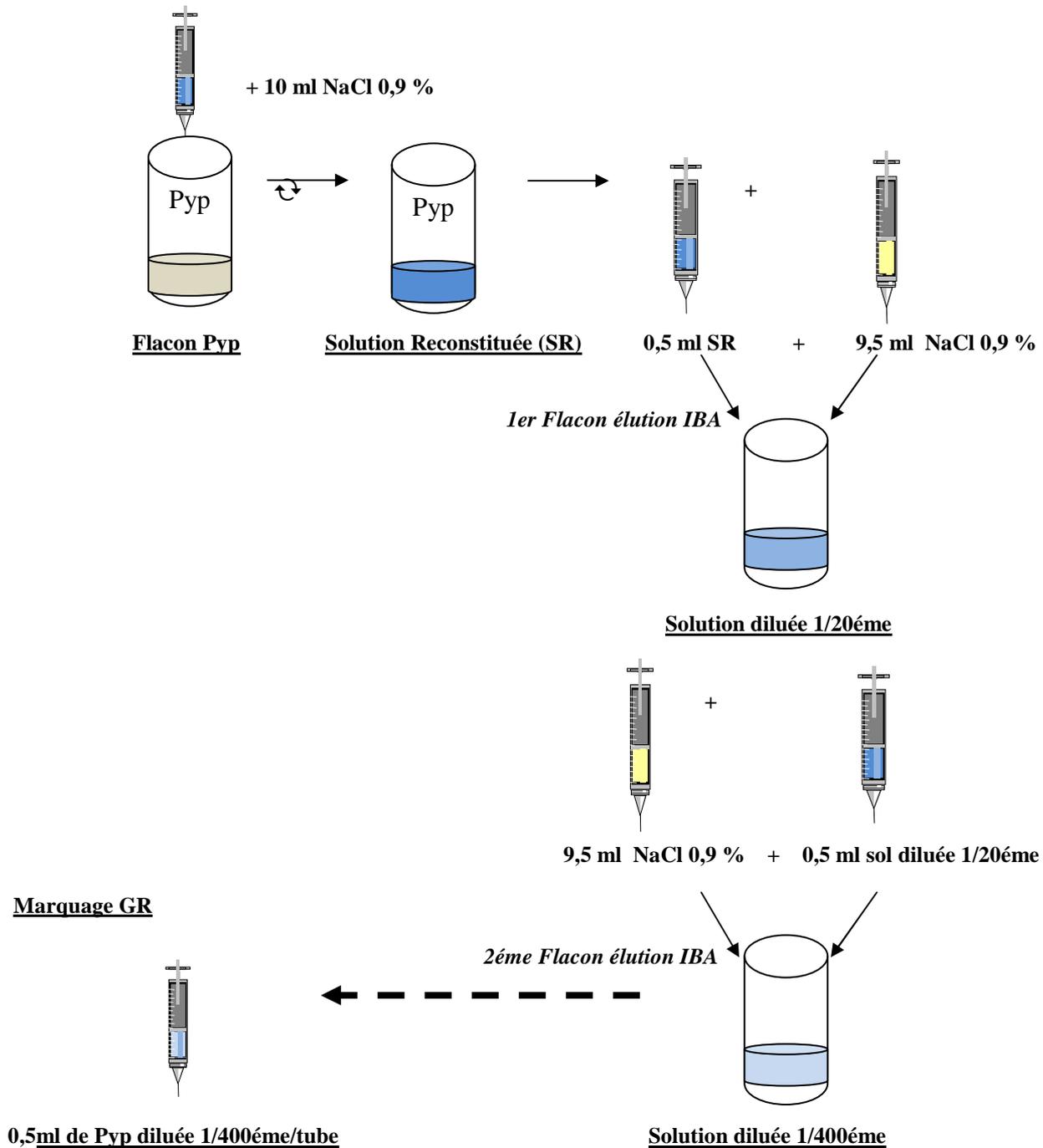
Prendre 0,5 mL de cette solution de PYP, la mettre dans un flacon d'élution contenant 9,5 mL de NaCl 0,9%. Mélanger.

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

<b>SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO</b>		
<b>MODE OPERATOIRE</b>	<b>Codification : MP11/01</b>	<b>Date révision :14182</b> <b>Indice révision : f</b>
<b>HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE</b>		<b>Fiche : 3</b> <span style="float: right;"><b>Page : 3/24</b></span>

Effectuer la même dilution en utilisant 0,5 mL de PYP dilué et 9,5 mL de NaCl 0,9%. Cette solution sera utilisée pour le marquage (cf. schéma ci-dessous).

### Schéma préparation solution diluée Pyp pour marquage des GR



<b>Destinataires : 1, 2, L</b>		
<b>Rédaction :</b> Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	<b>Validation:</b> Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	<b>Approbation :</b> Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 4/24

### 3.4 Marquage

- Prélever 0,5 mL de la solution PYP diluée au 1/400<sup>ème</sup> pour marquage et l'ajouter dans chaque tube de 3 mL de sang total hépariné.
- Agiter doucement et brièvement par retournement chaque tube, puis les laisser incuber à température ambiante sur agitateur rotatif lent pendant 5 minutes.
- Centrifuger à 700xg pendant 5 minutes (Programme 5). Jeter la totalité du plasma sans toucher au culot globulaire.

**→ Demander par interphone n° 363271 la solution de NaTcO<sub>4</sub> (environ 25 MBq dans 10 mL)**

*Pour pouvoir dispenser informatiquement cette seringue du poste de préparation, il faut au préalable :*

**1. Avoir fait la préparation de la solution diluée NaTcO<sub>4</sub> marq. GR dans un flacon** (solution faite par la personne en poste « préparation-dispensation ». Cliquer : Métier

↳ Radiopharmacie

↳ Laboratoire

↳ Préparation

- Sélectionner sur le menu à gauche : Eluat Tec sol diluée Ma GR puis renseigner les cases : Volume 10 mL, Activité 25 MBq et cliquer sur préparer

**2. Dispenser une seringue à partir de la préparation faite** (choisir la dilution correspondant au VG) :

Cliquer sur l'icône seringue en rouge (en haut à droite)

Cliquer sur 2 MBq dans la cas seringue

Décocher mesure prise en compte puis taper à nouveau 2

Puis Valider en cliquant sur activité prélevée

*Cette 2<sup>ème</sup> étape peut se faire du poste préparation ou marquage cellulaire*

- Ajouter 2 mL de NaCl 0,9%, mélanger par retournement, puis centrifuger à 700g pendant 5 minutes (Programme 5). Enlever et jeter la totalité du surnageant (avec un peu de GR au niveau du ménisque.)
- Ajouter environ 1,8 MBq de NaTcO<sub>4</sub> sous un volume de 1 ml.
- Laisser incuber 5 minutes à température ambiante sur agitateur rotatif lent.
- Mesurer l'activité à l'activimètre

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 5/24

- Centrifuger à 700g 5 minutes (Programme 5). Enlever et conserver le surnageant (S) pour mesurer le rendement de marquage.
  - Ajouter 2 mL de NaCl 0,9% au culot globulaire, mélanger par retournement 10 fois doucement, puis centrifuger à 700g pendant 5 minutes (Programme 5). Enlever un maximum de surnageant (SL) et le conserver pour mesurer son activité résiduelle afin de contrôler la qualité du lavage. Ajouter 1 mL de NaCl 0,9%. Mélanger doucement par retournement du tube.
  - Mesurer l'activité du culot érythrocytaire et calculer le pourcentage de l'activité totale dû au surnageant (Activité du surnageant / somme des activités surnageant + hématies).
- NB : Si l'activité du surnageant < 2 % de l'activité totale le lavage est considéré comme terminé. Dans le cas contraire refaire un cycle de lavage selon le même protocole.***
- Pooler les tubes dans un Falcon de 15 mL et faire une seringue d'environ 2 MBq (seringue de 5 mL)

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 6/24

**Traçabilité dans Gera** (à faire avant la dispensation finale car bloquant)

Métier

↳ Radiopharmacie ↳ Marquages cellulaires ↳ Séparation cellulaire

Sélectionner le patient puis remplir l'écran suivant :

Puis faire la traçabilité :

- Médicaments et réactifs (en cliquant onglet en bas à gauche)
- Matériel (en cliquant onglet en bas à gauche)

Pour chaque article sélectionner la DC et le n° de lot en indiquant la quantité puis basculer sur l'écran du bas avec la flèche pour prise en compte et faire ok.

Puis appliquer pour validation

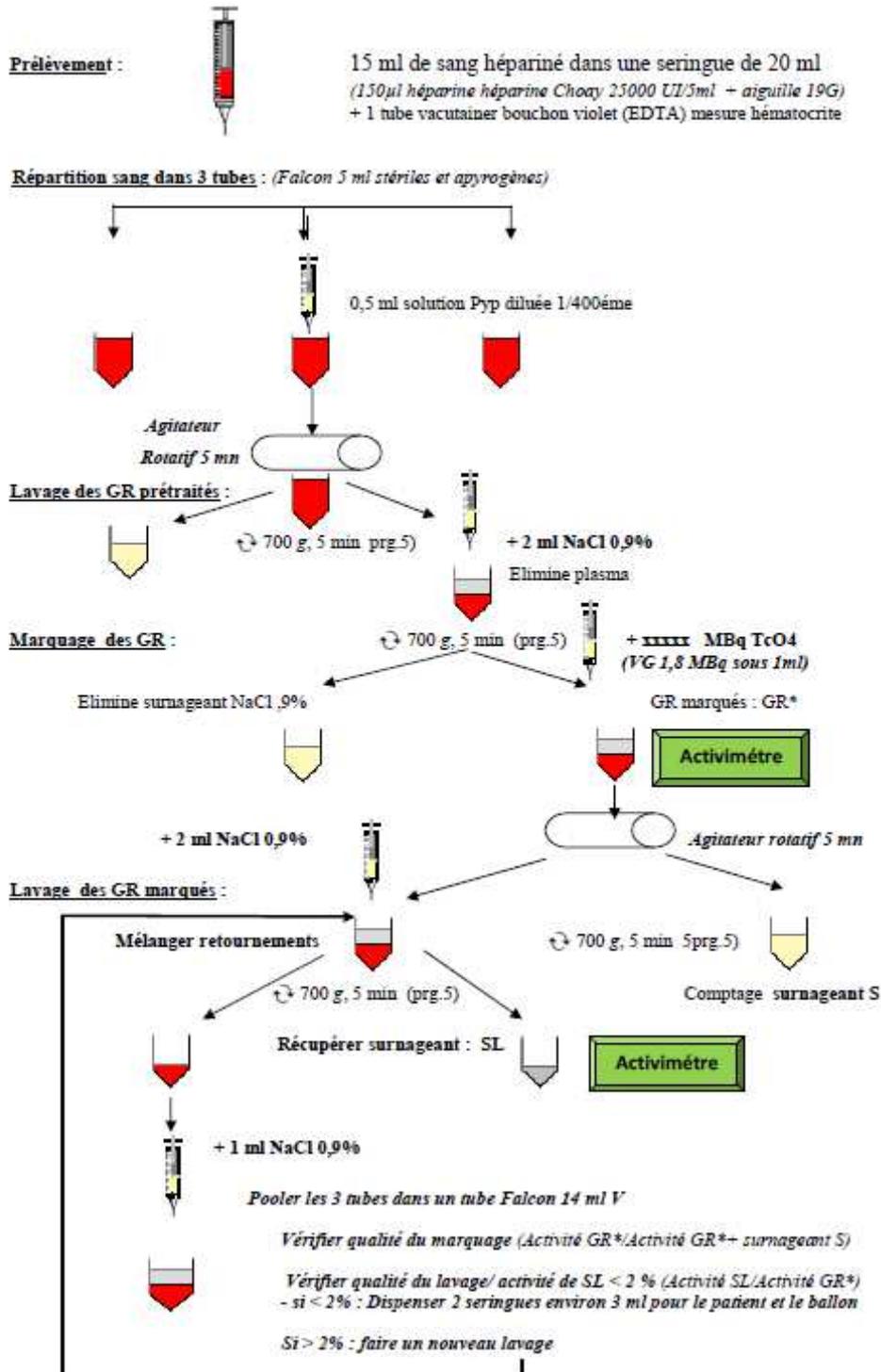
Il est possible d'éditer une fiche de fabrication reprenant tous les éléments en cliquant sur

Métier ↳ Radiopharmacie ↳ Traçabilité ↳ Marquage cellulaire

Cliquer sur l'onglet fiche de marquage (à droite de l'écran) puis indiquer la date de la préparation et cliquer sur le patient correspondant.

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

## Schéma du marquage des GR



Destinataires : 1, 2, L

Rédaction :  
Date : juin 2014  
Nom-visa : M.Fraysse

Validation:  
Date : juin 2014  
Nom-visa : M. Matanza

Approbation :  
Date : juin 2014  
Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 8/24

### 3.5 Détermination de l'activité injectée

Mélanger doucement les hématies marquées des 3 tubes dans un tube de 14 mL Falcon. **Le mélange doit être homogène.**

*Pour le patient :* Prélever à l'aide de l'aiguille spinale 18 G, 3 mL des hématies marquées dans une seringue de 5 mL.

Placer une nouvelle aiguille avec son embout.

**Remarque :** *Pour un problème d'homogénéité, il faut prélever en même temps la seringue destinée au ballon (cf. « pour le ballon » ci-dessous).*

- Peser la seringue pleine avec l'aiguille et son embout (balance de précision au 1/10 mg, Précisa 240A) soit Mp.
- Donner la seringue à la MER pour injection au patient en lui demandant :
  - d'utiliser une épicroânienne
  - de ne pas aspirer de sang dans la seringue
  - de retirer la seringue et de remettre l'aiguille et son capuchon
  - de rincer la tubulure d'épicroânienne avec du sérum physiologique.

La MER remplit la fiche d'accompagnement EP11/01,2b qui sera donnée avec la seringue vide après injection à la radiopharmacie.

- Peser la seringue vide avec même aiguille et même embout, soit Mv. Peser et noter la masse de 50 µL d'aliquot de hématies marquées dans un tube à hémolyse, soit Ma. Ajouter 950 µL de sérum physiologique. Mélanger et mesurer l'activité de l'aliquot (cf doc. 14/19).

*Pour le ballon :* Prélever 3 mL des hématies marquées et peser la seringue en suivant la même procédure que celle pour le patient. On injecte directement les hématies marquées dans le ballon (***bien homogénéiser le ballon par retournements et agitation avec barreau magnétique***). Remplacer le Mp et le Mv par les masses de la seringue pleine et la seringue vide du ballon. Pour déterminer l'activité injectée dans le ballon, effectuer le même calcul en utilisant la même activité de l'aliquot, Aa. Pipeter 8 x 1mL de contenu du ballon dans 8 tubes à hémolyse de 5 mL.

Faire un tube témoin pour vérifier l'absence de radioactivité : déposer 2 x 1 mL de sang restant du prélèvement dans 2 tubes de 5 mL pour comptage au compteur GAMMA 2480 WIZARD PERKIN ELMER.

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 9/24

### 3.6 Prélèvements sanguins et mesures

Effectuer les prélèvements sanguins environ 10 mL sur 2 tubes vacutainers héparinés (bouchon vert), 10, 20, et 40 minutes après l'injection (soit 6 tubes). Les temps peuvent sensiblement varier sans que cela porte atteinte à la qualité du résultat. Un 4ème point à 60 mn peut parfois être demandé

Homogénéiser les 6 tubes sur agitateur rotatif. Pipeter 1 mL de sang total dans 2 tubes de 5 mL, soit au total 6 tubes.

Centrifuger les 6 tubes Programme 1 (2000g, 10 minutes). Pipeter 1 mL de plasma dans 2 tubes de 5 mL pour chaque temps, soit au total 6 tubes. Ceux-ci permettent de déterminer le technétium libre qui pourrait être présent dans le plasma.

Compter les 12 tubes, le tube aliquot et les 8 tubes de contenu du ballon dans le compteur gamma GAMMA 2480 WIZARD PERKIN ELMER

Si la différence des activités des prélèvements sanguins (20, 40 et 60 minutes) est inférieure à 5%, prendre la moyenne des activités des 6 tubes.

Si les activités diminuent avec le temps et la différence est supérieure à 5%, extrapoler la valeur à l'origine (voir schéma) avec la feuille de calculs ou sur papier semi log.

Voir l'alignement des points et selon les cas, pour le résultat final, il faut prendre la valeur de l'ordonnée à l'origine pour s'affranchir de l'éluion (cf. radiopharmacien).

NB : pour le ballon, la moyenne des 8 prélèvements sera utilisée dans les calculs.

### 3.7 Calcul du volume globulaire

Pour les calculs, il faut utiliser 2 tableaux excel :

- volume CHLS : calculs faits à partir d'un aliquot dilué dans un ballon
- volume VG1.xls ou CHLS bis : calculs faits à partir d'un aliquot de la préparation pesé et mesuré au compteur gamma.

Les cases en gris sont à remplir.

#### *Cas calcul avec aliquot de la préparation pesé*

Soit Aa activité de l'aliquot de 50 µL

Mp masse de la seringue pleine

- Mv masse de la seringue vide

= Ma masse de l'aliquot de 50 µL

$$\text{Activité injectée (Ai)} = \frac{\text{Aa} \times (\text{Mp} - \text{Mv})}{\text{Ma}}$$

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 10/24

Soit Ab activité moyenne de 1 mL de sang total

Ap activité moyenne de 1 mL de plasma

Activité des hématies dans 1 mL de sang total = Ab - [(1 - hématocrite corrigée = hématocrite veineux x 0,98) x Ap]

Volume sanguin total (VST\*) =  $\frac{A_i}{Ab - [(1 - \text{hématocrite corrigée} = \text{hématocrite veineux} \times 0,98) \times Ap]}$

Volume globulaire (VG) = VST x hématocrite corrigée = hématocrite veineux x 0,98)

\* Le VST ainsi déterminé n'est pas représentatif du VST réel. Pour apprécier celui-ci, et uniquement si le résultat est demandé expressément, le VST doit être divisé par l'hématocrite somatique habituellement estimé à 0,91 de l'hématocrite corrigé (hématocrite veineux x 0,98).

### 3 - EXPRESSION DES RESULTATS

Le volume globulaire est exprimé par rapport au volume globulaire théorique d'un sujet "normal" de même surface corporelle. La surface corporelle peut-être déterminée à partir de nomogrammes (tables scientifiques Geigy, 6<sup>e</sup> éd. 1963) dont les photocopies des pages 642-643 constituent les pages 12 et 13 de ce document ou calculée à partir des formules des feuilles de calcul. Ces nomogrammes ont été calculés selon la formule de Du Bois et Du Bois (Arch. Intern. Med. 1916, 17,863) :

$$S = P^{0,425} \times T^{0,725} \times 0,007184$$

S = Surface en m<sup>2</sup>

P = Poids en kg

T = taille en cm

**Les résultats de VG rendus avec les 2 feuilles de calcul (CHLS ou VG1.xls = CHLS bis) doivent être sensiblement équivalents (< 5 %).**

*NB : - Le calcul à partir du fichier volume CHLS bis.xls permet de déduire systématiquement l'activité plasmatique de tous les échantillons de sang.*

*- Si on effectue le calcul avec le fichier VGCHLS, on peut se rendre compte de l'influence de l'activité plasmatique sur le résultat final. Généralement, la variation obtenue est < à 5 % et cela n'a pas d'incidence clinique mais on peut cependant tenir compte de l'activité plasmatique sur le résultat final en déduisant de l'activité plasmatique et en extrapolant la valeur à l'origine selon le schéma ci-après.*

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 11/24

**Remarque : les spécimens du fichier CHLS (p.16-17/21) – CHLS bis (p.18 -19/21) et l'article (4) (p. 20-21-21) sont mis en annexes.**

Le volume globulaire théorique est calculé selon des formules établies par International Committee for standardization in haematology (1) rapportées par Najean (2).

Chez l'homme adulte :  $VG (mL) = (1486 \times S) - 825$   
Volume plasmatique (mL) = 1578S

Chez la femme adulte :  $VG (mL) = (1,06 \times \text{âge}) + (822 \times S)$   
Volume plasmatique (mL) = 1395S

Le rapport volume globulaire du sujet/volume globulaire théorique est calculé.

Les valeurs sont pathologiques (chez plus de 98% de patients) si elles s'écartent de +/- 25 % des valeurs normales (N)

#### 4 - TRANSMISSION DES RESULTATS

Un dossier EP11/01 est constitué pour chaque examen et comprend :

- la lettre du prescripteur
- les feuilles de comptages et de pesées
- un tableau volume CHLS
- un tableau volume CHLS bis

Le radiopharmacien vérifie les résultats grâce aux 2 tableaux mais édite uniquement une fiche de calcul à partir du tableau Volume CHLS. Il remplit d'autre part une feuille résultat patient (voir en annexe p.15/21) qu'il valide par sa signature et qui est ensuite co-signée par le médecin nucléaire.

L'ensemble du dossier est transmis au secrétariat de médecine nucléaire pour validation médicale et enregistrement des données sur GERA.

Le résultat est communiqué au demandeur en lui adressant deux documents :

- la feuille résultat patient
- la fiche de calcul mise à jour à partir du tableau volume CHLS

Le dossier est rendu à la radiopharmacie pour archivage dans la boîte de classement EP11/01,2.

(1) PEARSON TC, GUTHRIE DL, SIMPONS J, CHINN S, BAROSI G, FERRANT A, LEWIS SM, NAJEAN Y.

Destinataires : 1, 2, L		
Rédaction : Date : juin 2014 Nom-visa : M.Fraysse	Validation: Date : juin 2014 Nom-visa : M. Matanza	Approbation : Date : juin 2014 Nom-visa: M.Fraysse

<b>SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO</b>		
<b>MODE OPERATOIRE</b>	<b>Codification : MP11/01</b>	<b>Date révision :14182</b> <b>Indice révision : f</b>
<b>HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE</b>		<b>Fiche : 3</b> <b>Page : 12/24</b>

Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults : expert panel on radionuclides of the International Council of standardization in haematology.  
Br. J. Haematol. 1995, 89, 748-756.

- (2) Y. NAJEAN  
Réévaluation de la méthode de calcul du volume globulaire et du volume plasmatique normal.  
Médecine Nucléaire, 1996, 20, 40 - 41.
- (3) INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY  
Recommended methods for measurement of red-cell and plasma volume.  
J. Nucl. Med. 1980, 91, 793-800.
- (4) Réévaluation de la méthode de calcul du volume globulaire et du volume plasmatique normal.  
Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique (1996) 20, 40-41

<b>Destinataires : 1, 2, L</b>		
<b>Rédaction :</b> <b>Date : juin 2014</b> <b>Nom-visa : M.Fraysse</b>	<b>Validation:</b> <b>Date : juin 2014</b> <b>Nom-visa : M. Matanza</b>	<b>Approbation :</b> <b>Date : juin 2014</b> <b>Nom-visa: M.Fraysse</b>

SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO		
MODE OPERATOIRE	Codification : MP11/01	Date révision :14182 Indice révision : f
HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE		Fiche : 3 Page : 13/24

## ANNEXES

### Procédure pour la détermination du PCV (Packed Cell Volum) par la méthode microhématocrite.

L'hématocrite est le rapport du volume globulaire sur le volume de sang total. La valeur est exprimée en fraction décimale ou en pourcentage.

Attention ! : Respecter les précautions « standards » lors de tout risque de contact avec le sang.

#### Matériel :

- Sang total hépariné (vacutainer® bouchon vert)
- microcentrifugeuse Sigma 1-14 (salle de marquage)
- 4 tubes capillaires héparinés
- Pâte à sceller
- Carte de lecture pour tubes capillaires

#### Méthode :

**Important ! :** Avant la mesure *bien homogénéiser le tube de sang hépariné* par retournements (20 fois)

- Remplir par capillarité un tube capillaire au  $\frac{3}{4}$  de sang hépariné (à partir du tube de prélèvement)
- Enfoncer l'autre extrémité du tube dans la pâte à sceller pour une obstruction totale du capillaire
- Essuyer le tube avec du papier absorbant
- Déposer le tube dans une rainure numérotée du plateau à centrifuger en mettant l'extrémité fermée vers l'extérieur
- Préparer ainsi le 2ème tube en le déposant de façon diamétralement opposé afin d'assurer l'équilibrage de la centrifugeuse
- Mettre le couvercle de la centrifugeuse
- Démarrer le cycle de centrifugation programmé à une vitesse de 13000trs/mn (11903xg) pdt 5 mn
- Le couvercle s'ouvre automatiquement à la fin du cycle de centrifugation
- Débloquent le couvercle du rotor et le retirer
- Faire la lecture immédiatement: mettre un tube sur la carte de lecture. Ajuster le bas du tube (entre les globules rouges et la pâte) sur 0 et le niveau du plasma sur 100
- Le taux d'hématocrite est donné par la valeur de la graduation correspondant à la hauteur de la colonne des globules rouges.

Destinataires : 1, 2, L

Rédaction :

Date : juin 2014

Nom-visa : M.Fraysse

Validation:

Date : juin 2014

Nom-visa : M. Matanza

Approbation :

Date : juin 2014

Nom-visa: M.Fraysse

**SERVICE DE TECHNIQUES NUCLEAIRES ET BIOPHYSIQUES : UF IN VITRO**

<b>MODE OPERATOIRE</b>	<b>Codification : MP11/01</b>	<b>Date révision :14182</b> <b>Indice révision : f</b>
<b>HEMATIES MARQUEES AU Tc-99m POUR DETERMINATION DU VOLUME GLOBULAIRE</b>	<b>Fiche : 3</b>	<b>Page : 14/24</b>

**Destinataires : 1, 2, L****Rédaction :**  
**Date : juin 2014**  
**Nom-visa : M.Fraysse****Validation:**  
**Date : juin 2014**  
**Nom-visa : M. Matanza****Approbation :**  
**Date : juin 2014**  
**Nom-visa: M.Fraysse**