

Groupes sanguins et applications

Groupes sanguins et applications

Groupes sanguins et applications

Groupe sanguin

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substances antigéniques héritées à la surface des globules rouges (hématies).

Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin, et certains de ces antigènes sont également présents à la surface d'autres types de cellules de différents tissus. Les divers groupes sanguins sont regroupés en systèmes.

Appartiennent à un même système de groupes sanguins l'ensemble des épitopes ou phénotypes résultant de l'action des divers allèles d'un même gène ou de gènes étroitement liés.

Le système ABO est défini par la **présence de l'antigène A et ou B sur la surface de la membrane du globule rouge** et par **l'absence de l'anticorps sérique correspondant**.

Le groupe ABO, le plus important en pratique médicale, offre quatre possibilités d'expression antigénique : **A, B, AB** ou aucun antigène, appelé **O** par convention. Le système **ABO** est le système **001** selon la nouvelle nomenclature des systèmes de groupes sanguins.

Chaque spécificité antigénique est également affectée d'un numéro, **A : 001, B : 002, AB : 003**

Historique

En 1901, Landsteiner a observé et publié que les sérums de certains de ses collaborateurs agglutinaient les globules rouges de certains autres.

A. D. Von Rechtwehr et A. Sturli, collaborateurs de Karl Landsteiner ont identifié en 1902, en utilisant un échantillonnage plus large (155 cas), le groupe **AB**.

Cette étape a inauguré une discipline nouvelle en biologie humaine et a permis l'essor d'une thérapeutique appelée à sauver des millions de vie : **la transfusion sanguine**.

En 1908, Epstein et Ottenberg ont suggéré que les groupes sanguins **ABO** sont transmis héréditairement, ce qui a été confirmé deux ans plus tard par Dungern et Hirsfeld.

En 1911, Von Dungern et Hirsfeld ont décrit les sous groupes de **A** (**A1** et **A2**).

Bernstein a déterminé le mode de transmission en 1924 et a montré que ces quatre groupes étaient transmis au moyen de **trois gènes allèles A, B, et O**.

En 1930, Thomsen, Friedenreich et Worsaeae ont inclus les sous groupes **A1** et **A2** et ont avancé la théorie héréditaire de quatre allèles.

Landsteiner fut honoré par le prix Nobel de physiologie et de Médecine pour la découverte des groupes sanguins en 1930.

En 1952 et 1953, Morgan et Watkins ont élucidé la structure biochimique des groupes sanguins **ABO** et ont démontré que les antigènes **A, B** et **H** sont des **déterminants carbohydate des glycoprotéines et des glycolipides**

En 1990, Yamamoto F et al. ont cloné et décrit les bases moléculaires des trois principaux allèles **ABO**.

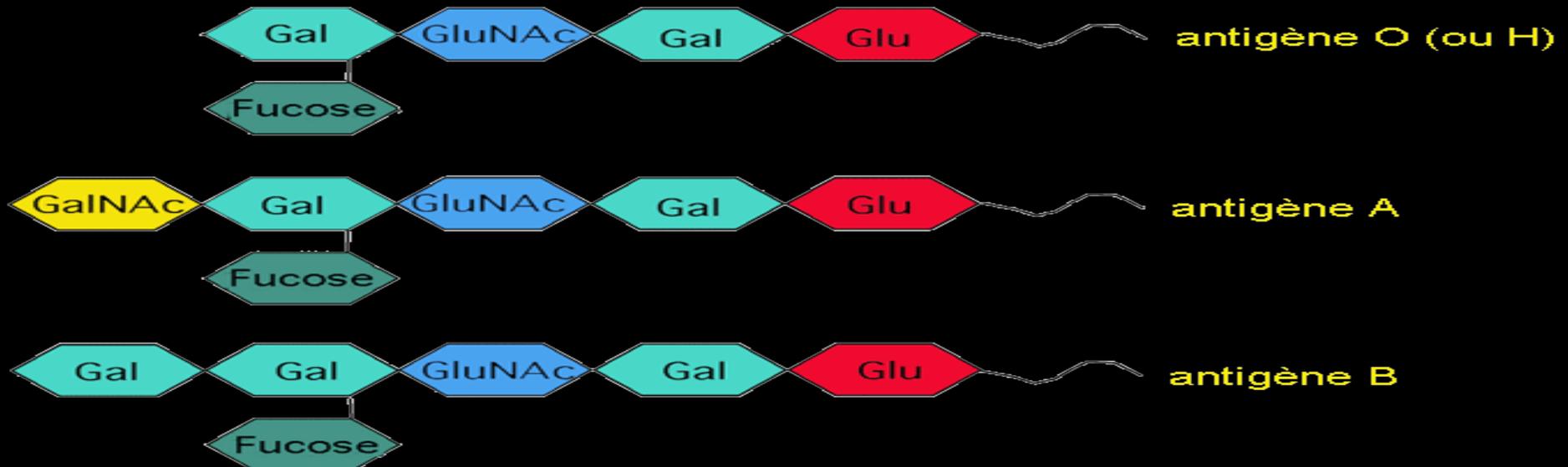
Le système ABO

- Les Antigènes A et B sont des sucres présents partout dans la nature.
- Les bactéries du tube digestif sécrètent en permanence ces sucres A et B.
- Passage sanguin
- Stimulation permanente de la fabrication d'anticorps anti A ou anti B en fonction des antigènes A et/ou B portés sur toutes les cellules

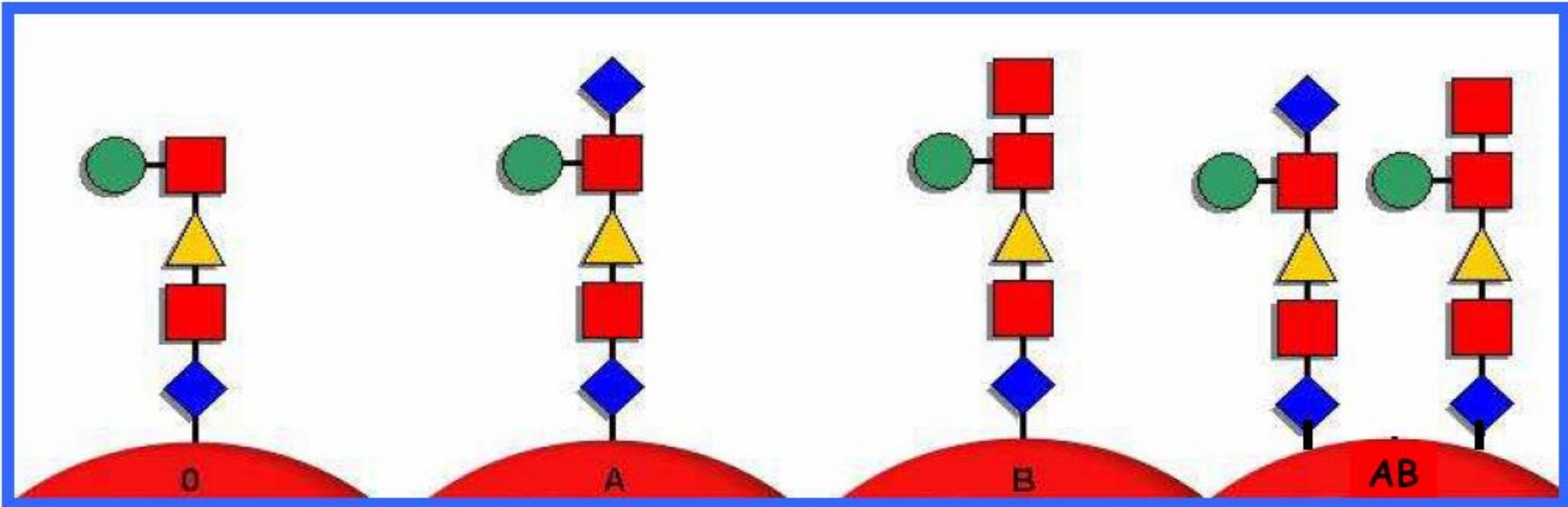
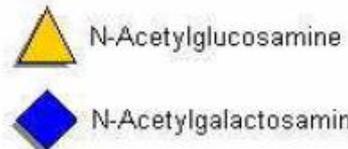
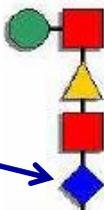
Les groupes sanguins **ABO** résultent d'une **glycosylation** effectuée par des glycosyltransférases sur des protéines. Ils viennent de ce que trois conformations possibles d'un oligosaccharide greffé sur une protéine membranaire des globules rouges donnent naissance à trois antigènes: l'antigène H (ou O), l'antigène A et l'antigène B.

Ces épitopes, **A, B et O**, sont entièrement glycosidiques.

L'épitope "**de base**" du système **ABO** consiste à la base d'un groupe de **cinq sucres**: le **glucose**, le **galactose**, le **N-acétylglucosamine**, le **galactose** et le **fucose**. Ces sucres constituent l'antigène **O (ou H)** qui est -théoriquement- partagé par tout le monde.

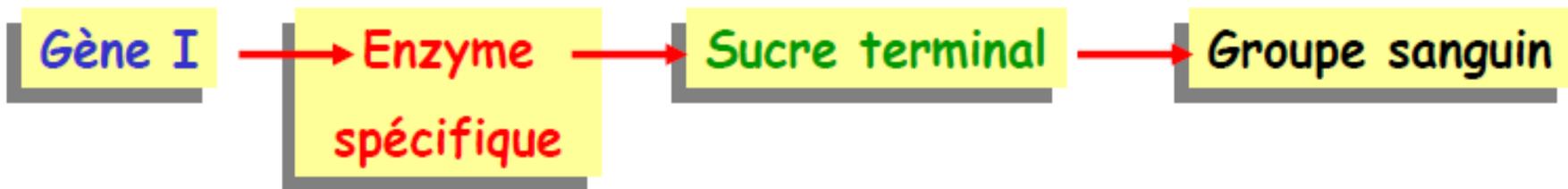


cose en plus petit



Sucres possibles à la surface de l'érythrocyte :

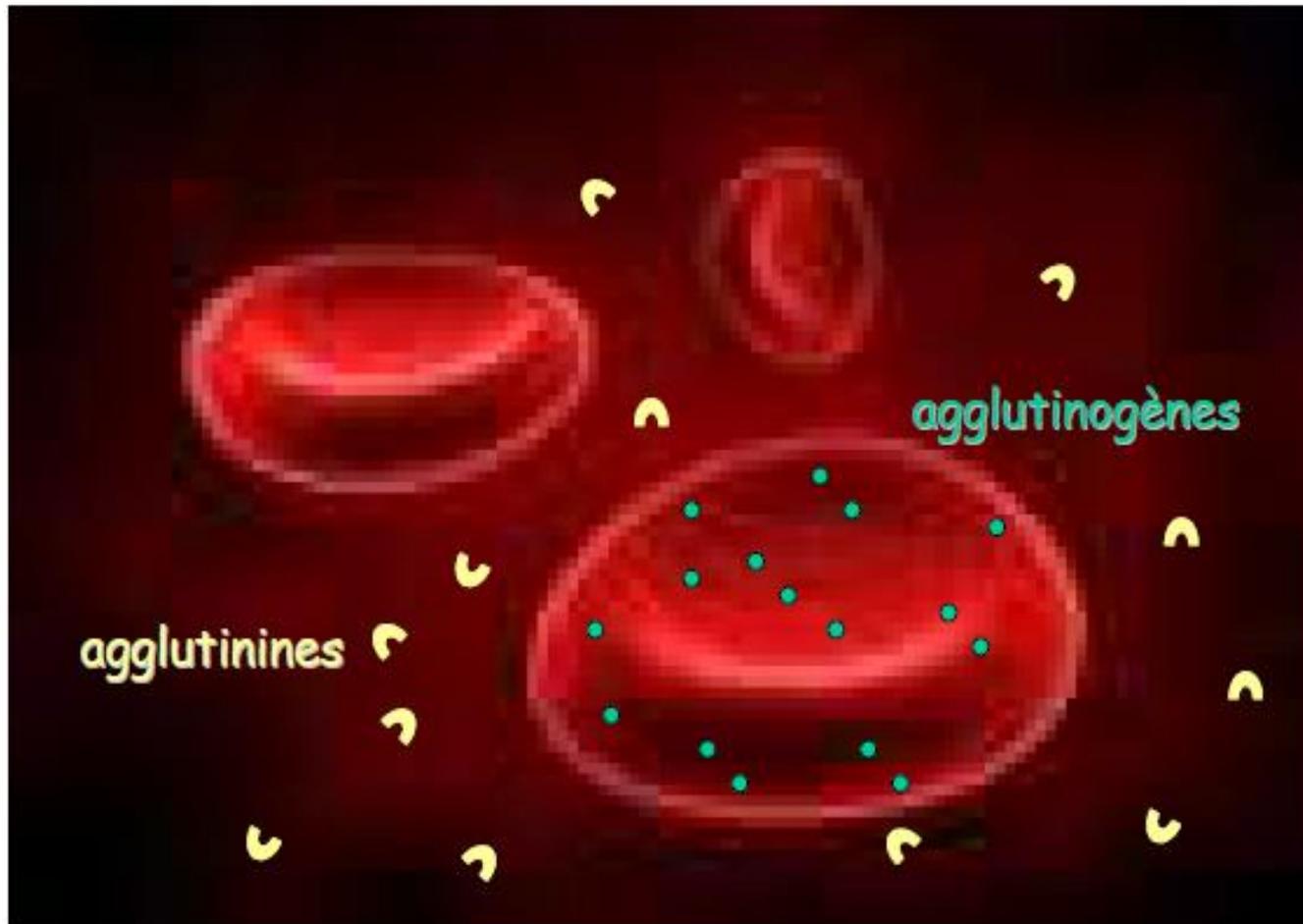
- aucun sucre \longrightarrow Aucun antigène (Groupe O)
- un galactose \longrightarrow Antigène B (Groupe B)
- une N-acétyl-galactosamine \longrightarrow Antigène A (Groupe A)
- N-acétyl-galactosamine + galactose \longrightarrow Antigène A + Antigène B (Groupe AB)



| | | | |
|-----------------------------|---------------------------|--|----|
| → Allèle A | Enzyme A | N-acétyl-galactosamine | A |
| → Allèle B | Enzyme B | Galactose | B |
| → Allèle A + Allèle B | Enzyme A + Enzyme B | N-acétyl-galactosamine + Galactose | AB |
| → Allèle O | Aucune Enzyme | Aucun sucre terminal | O |

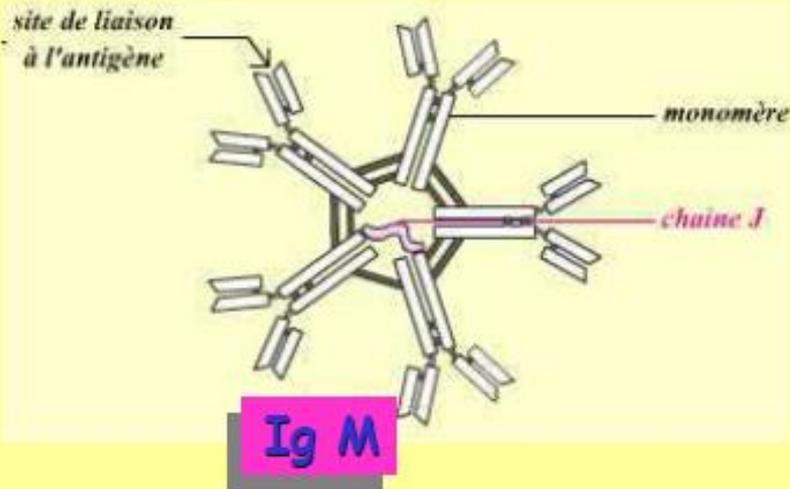
Chaque antigène est le **sucre final** d'une structure polysaccharidique qui est amené et fixé par l'enzyme correspondante (enzyme A pour l'antigène A, et enzyme B pour l'antigène B) sur la substance H initiale. **C'est la présence de l'antigène qui définit le groupe.**

Dans le sang :



→ Les agglutinines présentes dans le plasma ne correspondent **jamais** aux agglutinogènes présents sur les hématies

Description des agglutinines



Immunoglobulines pentamériques

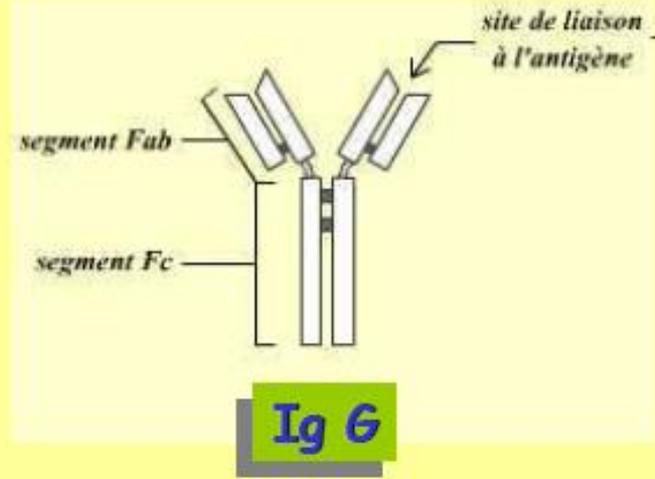
Anticorps **naturels**

Ne traversent pas la barrière foeto-placentaire.

Agglutinent les hématies même à froid

→ **Agglutinines**

Description des hémolysines



Immunoglobulines monomériques

Anticorps **immuns** (transfusion, grossesse...)

Traversent la barrière foeto-placentaire.

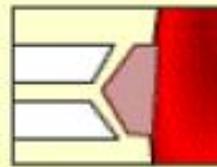
Lysent les hématies (pores) à 37°C

→ **Hémolysines**



Anticorps

immunoglobulines G ou M



Complexe

Antigène - Anticorps

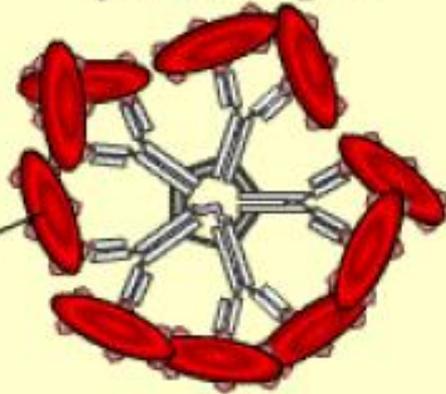


Antigènes

portés par les hématies

inactivation par
neutralisation ou
précipitation

Inactivation par agglutination :
les anticorps relient les cellules entre elles
par leurs antigènes

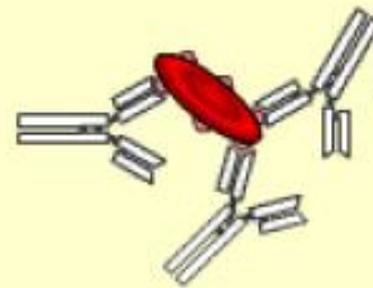


hématie
agglutinée

activation de la phagocytose

**destruction des
hématies**

Fixation et activation du complément :
les anticorps fixés aux antigènes activent la voie
classique du complément

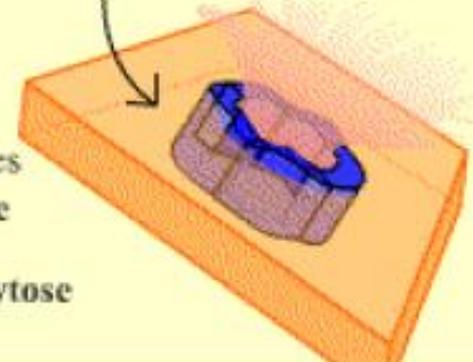


C1, C4, C2 → C3

C9, C8, C7, C6, C5, C4, C3b

Insertion de pores
dans la membrane des
hématies : **hémolyse**

+
activation de la phagocytose



Compatibilité système ABO par donneur dans le cadre d'une transfusion de globules rouges

Dans le cadre de la transfusion sanguine, les donneurs O peuvent donner aux receveurs O, A, B et AB ; les donneurs A peuvent donner aux receveurs A et AB ; les donneurs B peuvent donner aux receveurs B et AB ; les donneurs AB ne donnent qu'aux receveurs AB.

Ce fait qualifie, uniquement dans le système ABO bien sûr, les donneurs O comme *donneurs universels*.

| Type du donneur | Type de sang du receveur | | | |
|-----------------|--------------------------|---|---|----|
| | O | A | B | AB |
| O | 😊 | 😊 | 😊 | 😊 |
| A | | 😊 | | 😊 |
| B | | | 😊 | 😊 |
| AB | | | | 😊 |

Compatibilité système ABO par receveur dans le cadre d'une transfusion de globules rouges

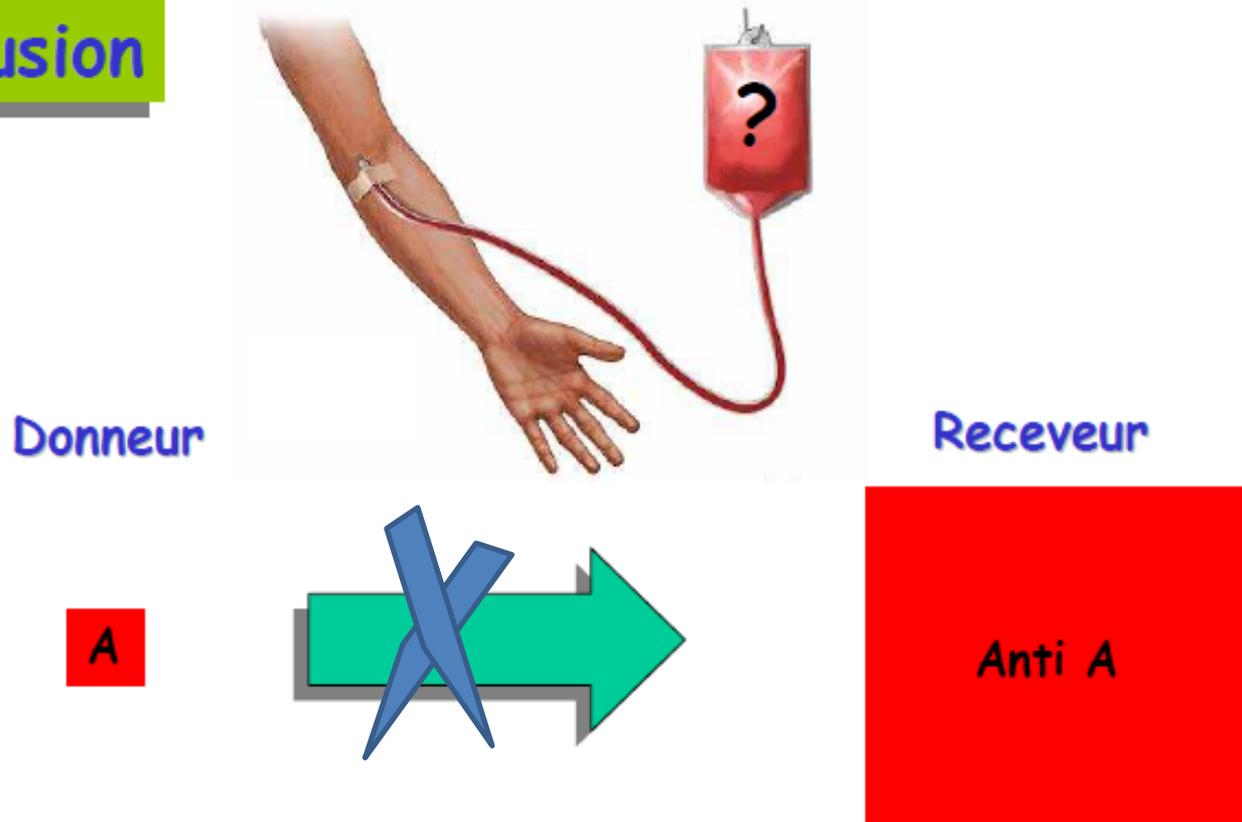
Inversement, les receveurs O ne peuvent recevoir que d'un donneur O ; les receveurs A, de donneurs O ou A ; les receveurs B, de donneurs O ou B ; et les receveurs AB, de donneurs O, A, B, ou AB.

Ce fait qualifie, uniquement dans le système ABO bien sûr, les individus de groupe AB comme *receveurs universels*.

| Type du receveur | Type de sang du donneur | | | |
|------------------|---|--|---|---|
| | O | A | B | AB |
| O |  | | | |
| A |  |  | | |
| B |  | |  | |
| AB |  |  |  |  |

Quelles règles respecter pour une transfusion sanguine

Transfusion



Règle de base : ne jamais transfuser des globules rouges portant l'agglutinogène correspondant à l'agglutinine du receveur (les agglutinines du receveur ne doivent pas reconnaître les agglutinogènes du donneur)

Exemple : Groupe A \longrightarrow Groupe B \longrightarrow HEMOLYSE !!!

Et les agglutinines du donneur ?

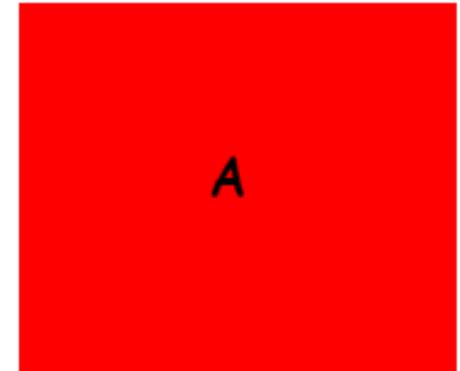
Donneur



Anti A



Receveur



A

Exemple : Groupe O  Groupe A

Ac

Les agglutinines anti A du donneur peuvent reconnaître les agglutinogènes A du receveur !

Ag

Sans gravité : incompatibilité mineure

Volume de sang transfusé faible  agglutinines du donneur très diluées dans le sang du receveur donc peu actives

Rq : Actuellement : transfusion de « concentrés érythrocytaires » pour éviter problèmes d'incompatibilité du sérum

Transfusion

Cas particulier : sang du donneur riche en hémolysines

- Donneur (généralement du groupe O) ayant déjà subi une première sensibilisation : erreur de transfusion ou grossesse
- Synthèse d' **hémolysines** antiA ou antiB
- Risque d'**hémolyse grave** des hématies du receveur
(Hémolysines beaucoup plus actives que les agglutinines)

→ Recherche obligatoire d' hémolysines chez les donneurs

Erreur de
Transfusion
(reçoit A)
↓
Synthèse
d'**hémolysines**
antiA



Transfusion



Hémolyse !!!!

Hémolysines anti A du
donneur détruisent les
hématies du receveur

Si un donneur du groupe sanguin A possède l'anticorps anti-B, comment peut-il donner du sang à un receveur AB, qui a donc l'antigène B à la surface de ses hématies?

Un plasma issu d'un **donneur de groupe A** (contenant donc des **anticorps anti-B**) ne peut donc être transfusé à un receveur de **groupe B** ou **AB**.

Pour un concentré de globules rouges, ce sont cette fois les anticorps naturels anti-ABO du receveur qui peuvent présenter un danger en altérant les globules rouges transfusés (**il n'y a que très peu de plasma du donneur dans les concentrés de globules rouges**).

Ainsi, un concentré de globules rouges issu d'un donneur de groupe A ne peut pas être transfusé à un patient présentant des anti-A dans son plasma (donc de groupe B ou O).

Incompatibilité Foeto-maternelle

Pas d'incompatibilité foeto-maternelle dans le système ABO car les agglutinines ne traversent pas la barrière foeto-placentaire

Cependant : accouchement : passage de quelques globules rouges foetaux dans la circulation générale maternelle.

- Réaction immunitaire maternelle dirigée contre les antigènes érythrocytaires foetaux n'appartenant pas au groupe sanguin maternel
- Production d' **hémolysines** spécifiques de ces antigènes

Génétique

Les gènes *ABO* se situent sur le **chromosome 9**. Chaque **locus du chromosome 9** est occupé par un gène **A, B ou O**. Le gène **O** est considéré comme un gène amorphe car il ne conduit à aucun antigène détectable sur les globules rouges.

Phénotypes A1/A2

La subdivision du groupe **A** en deux sous groupes : **A1** et **A2** et le groupe **AB** en **A1B** et **A2B** a été mise en évidence dès 1911.

Le nombre de phénotypes courants est passé de quatre à six : **A1**, **A2**, **B**, **A1B**, **A2B** et **O**.

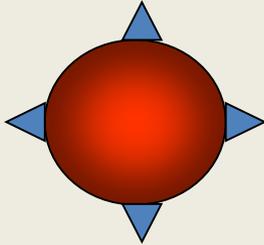
Les hématies **A1** et **A2** sont agglutinées par les réactifs **anti-A**, mais seules les hématies **A1** et **A1B** sont agglutinées par l'**anti-A1** (de sujet **B**).

La distinction pratique entre ces deux phénotypes n'a **aucun intérêt clinique transfusionnel ou obstétrical**.

Environ 80% des sujets de phénotype A sont A1 et 20% sont A2.

Le système ABO

Globule rouge



Antigènes



Groupe

A, B, AB, O

Plasma

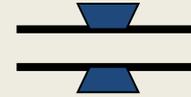


Anticorps

**Naturels
Réguliers**

Anti A, Anti B

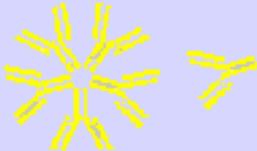
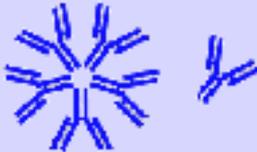
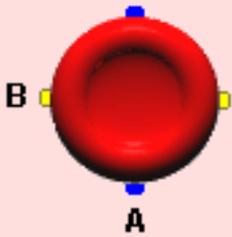
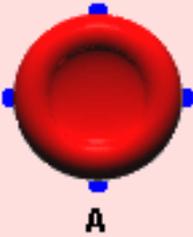
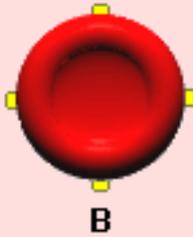
Génome



Gène

A, B

Le système ABO

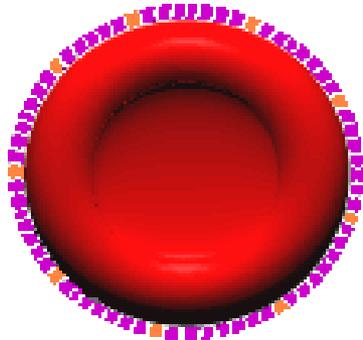
| | | | | |
|---|--|--|--|--|
| <p>Isoagglutinins</p> | | <p>Anti-B</p>  | <p>Anti- A</p>  | <p>Anti-B</p>  <p>Anti- A</p>  |
| <p>Erythrocytes with surface antigens</p> |  |  |  |  |
| <p>Blood groups</p> | <p>AB</p> | <p>A</p> | <p>B</p> | <p>O</p> |

Le système ABO

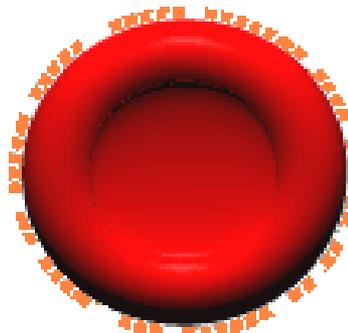
| Groupe | Antigène | Anticorps | Génotype | Fréquence |
|-----------|-------------|---------------|------------|------------|
| A | A | Anti B | A/A A/O | 45% |
| B | B | Anti A | B/B B/O | 9% |
| AB | A, B | - | A/B | 3% |
| O | - | Anti A+Anti B | O/O | 43% |

Le système ABO

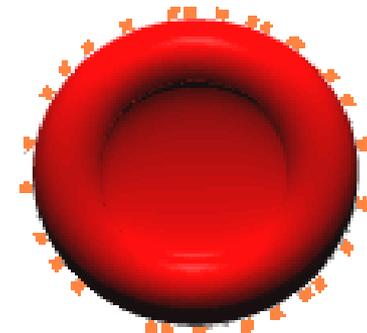
Antigen Frequency in Blood Group A Subgroups



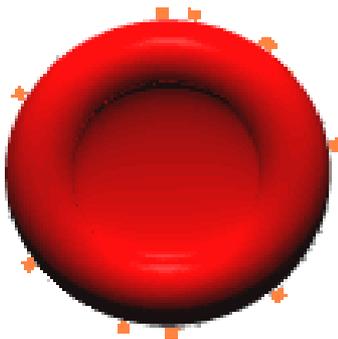
A₁-Erythrocyte
800'000-900'000 Antigens



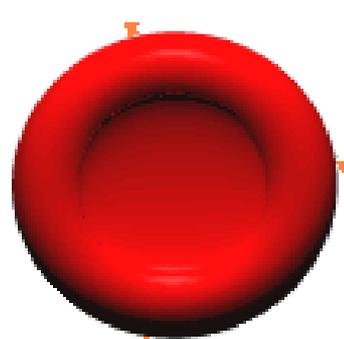
A₂-Erythrocyte
160'000-440'000 Antigens



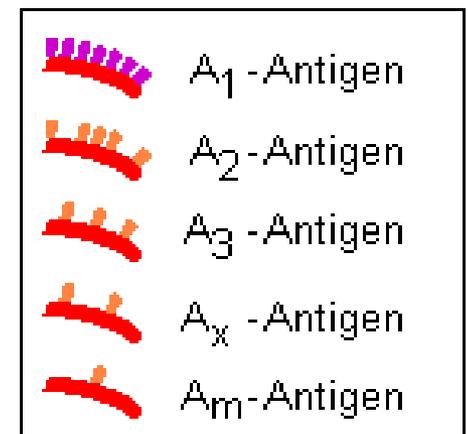
A₃-Erythrocyte
35'000-100'000 Antigens



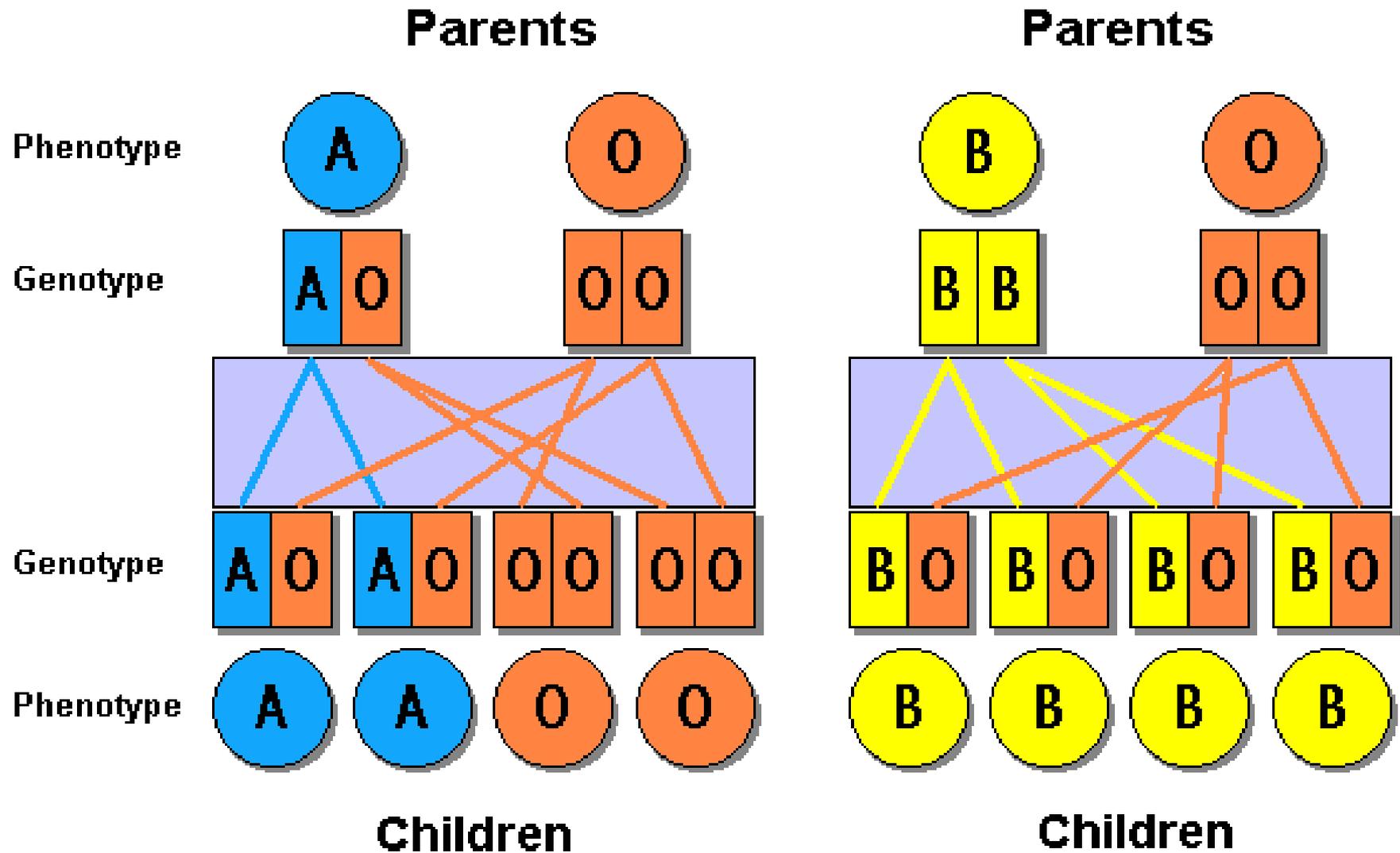
A_x-Erythrocyte
1'400-10'300 Antigens



A_m-Erythrocyte
200 - 1'090 Antigens



Génétique du système ABO



Ainsi le système ABO est caractérisé par trois allèles : *A*, *B*, et *O*.

Ces allèles sont portés par un [autosome](#) (par opposition aux chromosomes sexuels X ou Y). Tout individu possède donc deux allèles, l'un venant de son père et l'autre de sa mère, à un même locus, c'est-à-dire à un emplacement défini sur le [chromosome](#). En l'occurrence, pour le système ABO, sur le [chromosome 9 humain](#), plus précisément en 9 q34-2.

Lorsque le sujet possède à la fois l'allèle *A* et l'allèle *B*, les deux sucres se trouvent alors sur l'érythrocyte et le sujet est de groupe AB. Lorsqu'il ne possède que 2 allèles *O*, il sera de groupe O, s'il possède un ou deux allèles *A* et pas l'allèle *B*, il sera A, s'il possède un ou deux allèles *B* et pas l'allèle *A*, il sera B.

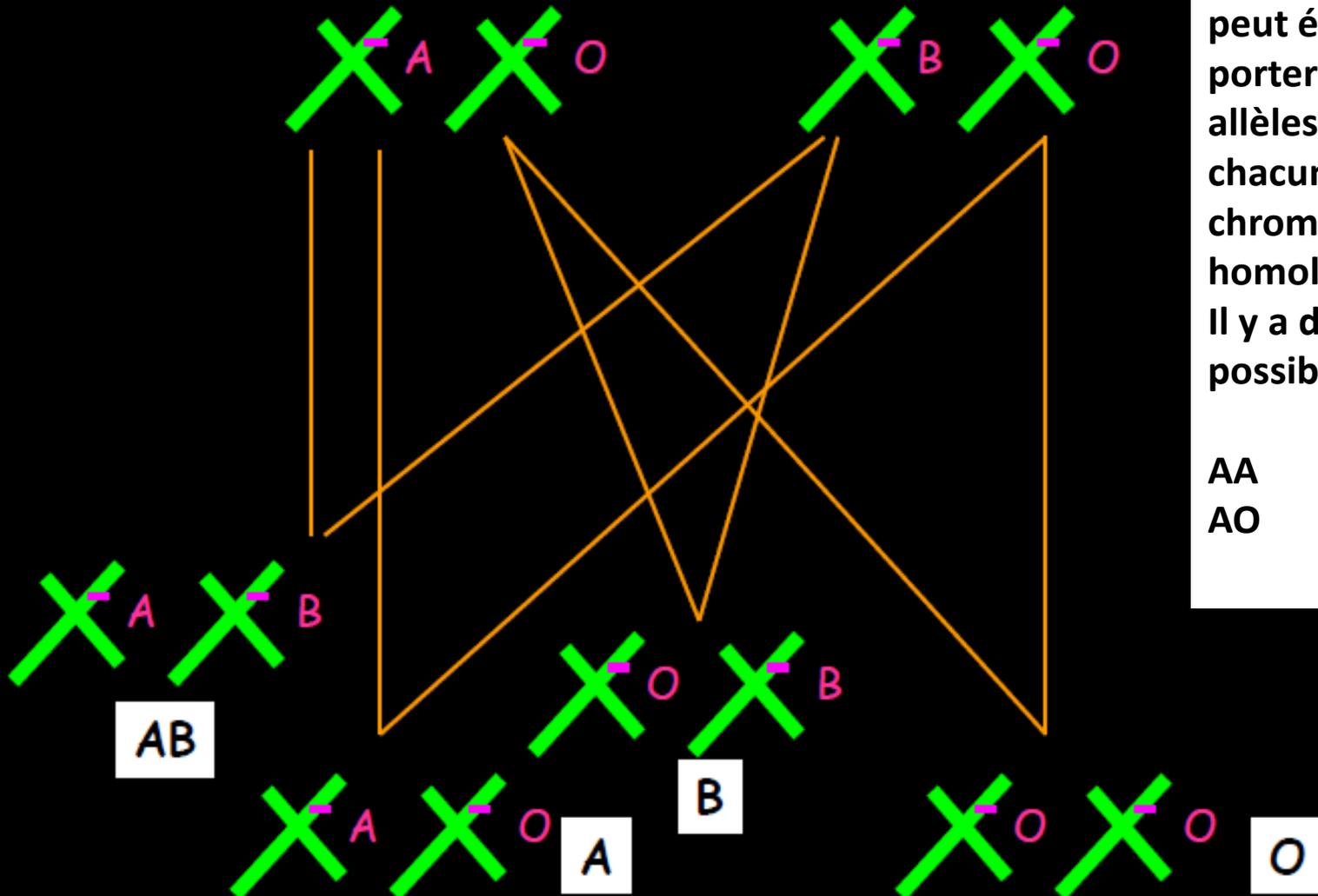
Ainsi, un couple de parents, dont la mère est génétiquement *A / O*, donc de groupe A, et le père *B / O*, donc de groupe B, pourra avoir des enfants de quatre groupes différents. Si chacun des parents transmet son allèle *O*, l'enfant sera génétiquement *O / O*, donc de groupe O. Si le père transmet l'allèle *O* et la mère l'allèle *A*, l'enfant sera *A / O*, donc de groupe A. Si le père transmet l'allèle *B* et la mère l'allèle *O*, l'enfant sera *B / O*, donc de groupe B. Si la mère transmet l'allèle *A* et le père le gène *B*, l'enfant sera alors *A / B*, donc de groupe AB.

Transmission génétique dans le Système ABO

Exemple

Mère **A**

Père **B**



Chaque individu ne peut évidemment porter que deux de ces allèles à la fois (un sur chacun des deux chromosomes 9 homologues). Il y a donc 6 génotypes possibles:

| | | |
|----|----|----|
| AA | BB | AB |
| AO | BO | OO |

Les gènes **A et B sont codominants**, c'est à dire qu'ils ne présentent pas de rapport de dominance l'un par rapport à l'autre. Un individu **AB** fabriquera les deux sortes de glycoprotéines (A et B) déterminées par ces gènes.

Par contre, le **gène O est récessif** par rapport aux deux autres.

A = B > O

Le groupe sanguin (système ABO) est déterminé par la sorte de glycoprotéine à la surface des globules rouges. Donc on aura, pour chacun des génotypes, le groupe suivant:

| | | |
|-----------------|------------------|--------------|
| AA et AO | groupe A | (41%) |
| BB et BO | groupe B | (9%) |
| AB | groupe AB | (3%) |
| OO | groupe O | (47%) |

Les cellules du sang ont une identité

Même si la composition du tissu sanguin est la même pour tous, les différents éléments du sang portent à leur surface des marques d'identité individuelle. Il s'agit de molécules, les antigènes, qui varient d'une personne à l'autre.

Concernant les cellules du sang – globules rouges, globules blancs et plaquettes – et certaines protéines du plasma comme les immunoglobulines, ces différences définissent les groupes sanguins.

Il existe ainsi plusieurs dizaines de systèmes antigéniques (Kell, Duffy, Kidd...) permettant de caractériser les cellules sanguines, dont plus de **20 pour les seuls globules rouges**. Les plus importants pour la transfusion sont les systèmes ABO et Rhésus, qui déterminent la compatibilité sanguine entre deux individus.

LE SYSTEME RHESUS

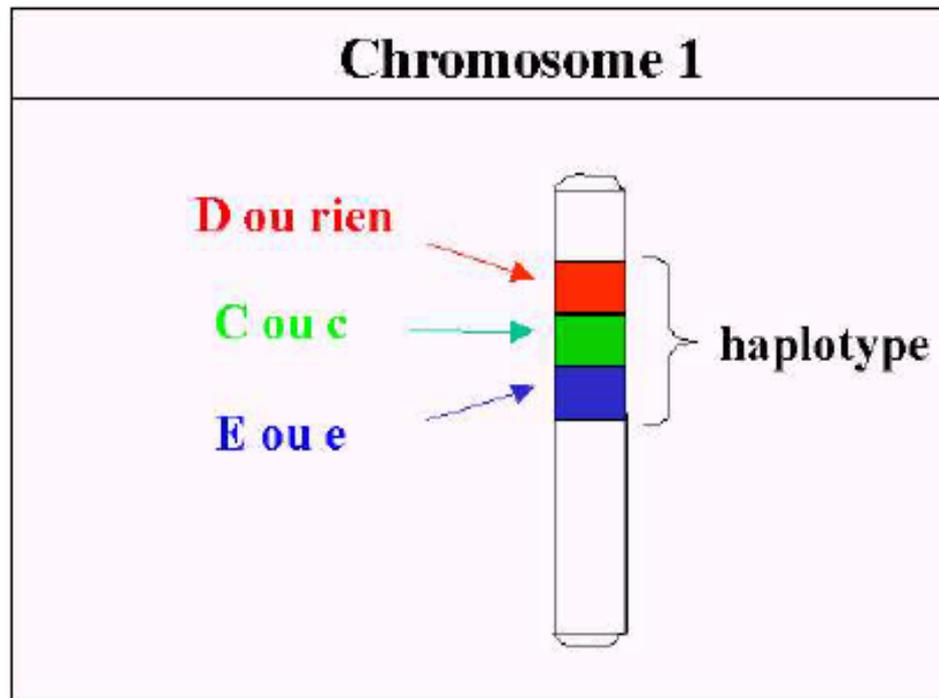
Découverte : 1939-1940 par Landsteiner et Wiener (singe macacus rhésus)

Antigènes : protéine D transmembranaire portée uniquement par les GR

→ Antigène D 85% des sujets sont D+ Rhésus+
 15% des sujets sont D- Rhésus-

→ Antigènes C, c, E, e : allèles codominants D'autres antigènes du système Rhésus

Exemples :



Phénotype

Génotype

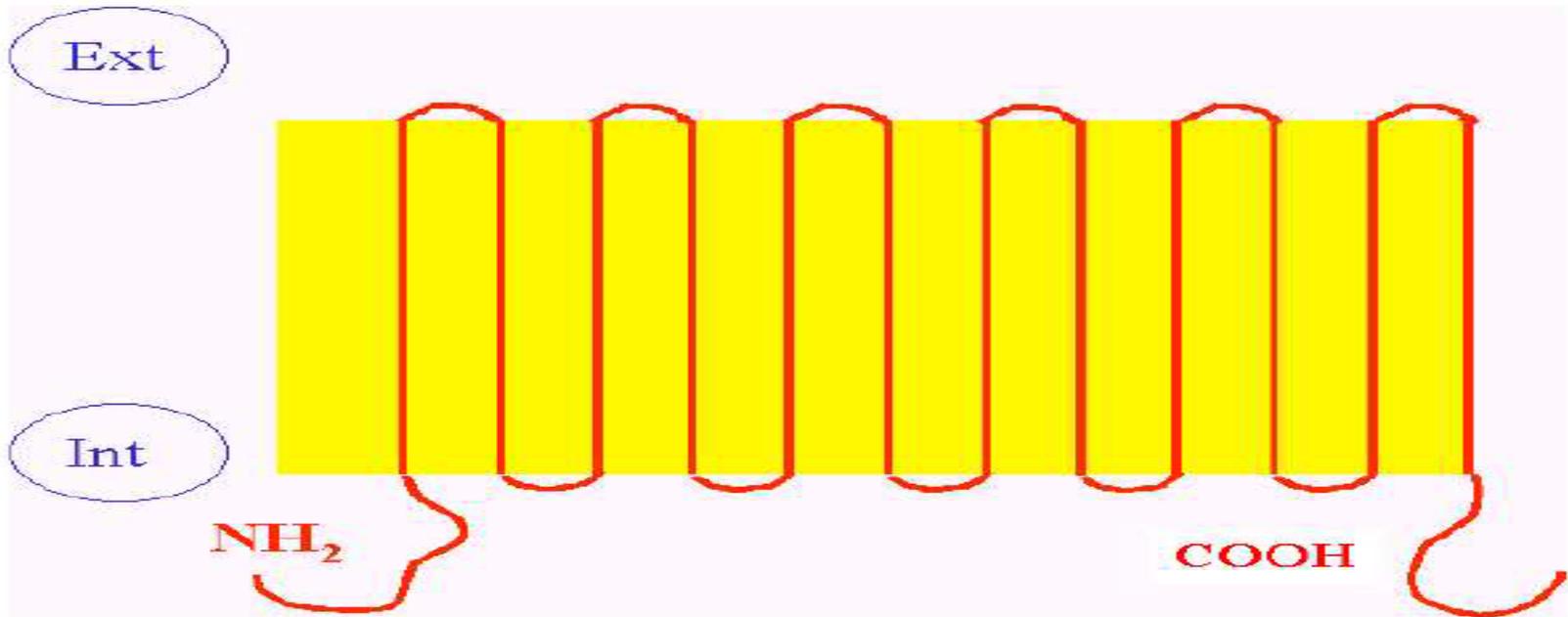
Dce

Dce/Dce

Dce/dce

DCce

DCe/dce



La protéine D

Le système Rhésus est un système complexe qui comporte plusieurs antigènes dont le plus important pour la transfusion est l'antigène D. Sur les globules rouges des sujets dits **Rhésus négatifs** l'antigène D n'est pas présent alors qu'il l'est chez les sujets **Rhésus positif**.

LE SYSTEME RHESUS

(Suite)

Anticorps : spécifiques mais **irréguliers** : non naturels mais produits seulement après une immunisation :

- Transfusion non iso-rhésus
- Grossesse femme Rh- enfant Rh+

Donc : Individu Rh-  pas d'anticorps anti Rh dans le plasma

Mais : Si transfusion ou grossesse +  synthèse d' anti D

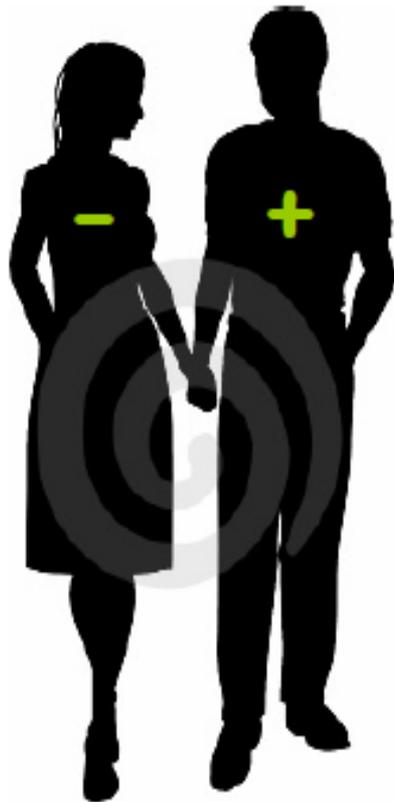
2 ème Transfusion ou grossesse  Hémolyse !!!

Ne jamais transfuser du sang Rh+ à un receveur Rh-

Groupage : sérum test antiD

La Maladie Hémolytique du Nouveau-né

Ou quand les mamans Rh- détruisent les globules rouges de leurs bébés Rh+



Incompatibilité foeto-maternelle : Mère Rh- \longleftrightarrow Enfant Rh+

1) Grossesse 1 :

normale

2) Accouchement 1 : passage de quelques hématies de l'enfant à la mère (portent antigène D)

→ la mère fabrique des anticorps anti D (après l'accouchement)

3) Grossesse 2 :

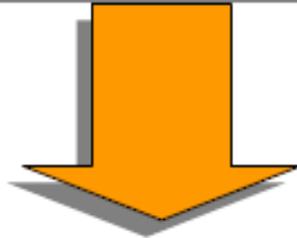
les anticorps antiD de la mère traversent la barrière placentaire pour attaquer les hématies de l'enfant

→ **Hémolyse chez le nouveau né**

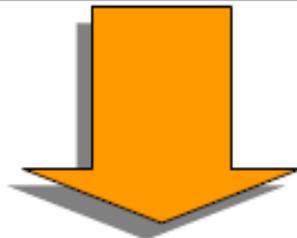
Selon gravité : ictère et anémie du bébé, transfusion, exsanguino-transfusion à l'accouchement ou même in-utéro....

Prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né :

Injection chez la mère d'immunoglobulines antiD avant le premier accouchement



Destruction des hématies Rh+ du fœtus passant chez la mère lors du premier accouchement



Pas de synthèse d'antiD par la mère

Compatibilités Donneur-Receveur

Systeme ABO + Systeme Rhésus

| Type du receveur | Donneur | | | |
|------------------|---|---|---|---|
| | O | A | B | AB |
| O |  | | | |
| A |  |  | | |
| B |  | |  | |
| AB |  |  |  |  |

| Type du receveur | Donneur | |
|------------------|---|--|
| | Rh+ | Rh- |
| Rh+ |  |  |
| Rh- | |  |

Conclusion : AB+ Receveur universel
O- Donneur universel

QUIZ

Un homme de groupe A et une femme de groupe B peuvent-ils avoir un enfant de groupe O?

Oui si l'homme est AO et la femme BO : ils ont alors une chance sur 4 d'avoir un enfant de groupe OO.

Un homme de groupe sanguin AB peut-il être le père d'un enfant de groupe O si la mère est également de groupe O?

Non. Pour être de groupe sanguin O, un enfant doit recevoir un O de son père et un O de sa mère.

Meriem attend un enfant. Quel sera son groupe sanguin se demande son père? C'est curieux répond Meriem, tout ce qu'on peut affirmer c'est qu'il n'aura pas ton groupe ni le mien. Quels sont les groupes sanguins des parents et ceux que pourrait avoir l'enfant?

Les parents sont AB et O. Si vous tracez l'échiquier de ce croisement, vous verrez que ces parents ne peuvent pas avoir d'enfant de leur propre groupe. L'enfant sera ou bien de groupe A (AO) ou bien de groupe B (BO).

Le groupe sanguin est toujours suivi d'un signe **+** ou **-**. Ce signe indique si on retrouve ou non, à la surface des cellules, une protéine appelée **Rh (ou D)**.

Présence de la protéine dite Rh : **Rh+**

Absence de cette protéine : **Rh-**

La présence de cette protéine est déterminée par un gène appelé **R**. La forme récessive **r** ne s'exprime pas. Ces allèles sont portés par un autre chromosome que celui portant les allèles déterminant le système **ABO**.

Les individus au génotype **RR** ou **Rr** possèdent donc la protéine **Rh** sur leurs globules rouges alors que les individus **rr** ne la possèdent pas. Un homme **AB+** possède donc, à la surface de ses globules rouges, les protéines **A** et **B** et la protéine **RH**.

Quel serait le génotype d'un homme de groupe AB-?

AB (sur une paire de chromosomes) et rr (sur une autre paire). Donc ABrr.

Un homme a le groupe AB+. Sa mère est du groupe A-. Quel est le génotype de cet homme ? Quelle proportion de ses spermatozoïdes contiennent les gènes A et Rh+ ?

L'homme est ABrr. La moitié de ses spermatozoïdes contient le chromosome portant le gène A. De cette moitié, la moitié contient le chromosome portant le gène R. La moitié de la moitié, soit le quart de ses spermatozoïdes contient les gènes A et R

Quels sont les génotypes des parents impliqués dans les croisements suivants ? (Groupes sanguins du système ABO)

| Phénotype des parents | | Phénotypes des enfants | | | |
|-----------------------|--------|------------------------|-----|-----|-----|
| | | A | B | AB | O |
| a. | B X B | - | 3/4 | - | 1/4 |
| b. | B X AB | - | 1/2 | 1/2 | - |
| c. | B X A | - | 1/2 | 1/2 | - |
| d. | B X A | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 |
| e. | B X AB | 1/4 | 1/2 | 1/4 | - |
| f. | B X O | - | 1 | - | - |
| g. | B X O | - | 1/2 | - | 1/2 |

a. BO et BO

b. BB et AB

c. BB et AO

d. BO et AO

e. BO et AB

f. BB et OO

g. BO et OO

Anticorps irrégulier et régulier

Un anticorps est qualifié d'irrégulier par les immunohématologistes lorsqu'il n'est pas systématiquement présent chez les sujets dépourvus de l'antigène correspondant.

Ainsi les anticorps du système de groupe ABO sont des anticorps réguliers, car tout sujet âgé de plus de quelques mois ne possédant pas les substances A ou B, doit normalement avoir dans son sérum des anticorps anti-B ou anti-A.

Par opposition, rares sont les sujets rh négatifs, donc dépourvus de l'antigène D (RH1), qui possèdent dans leur sérum un anti-D. Cet anticorps est donc qualifié d'irrégulier.

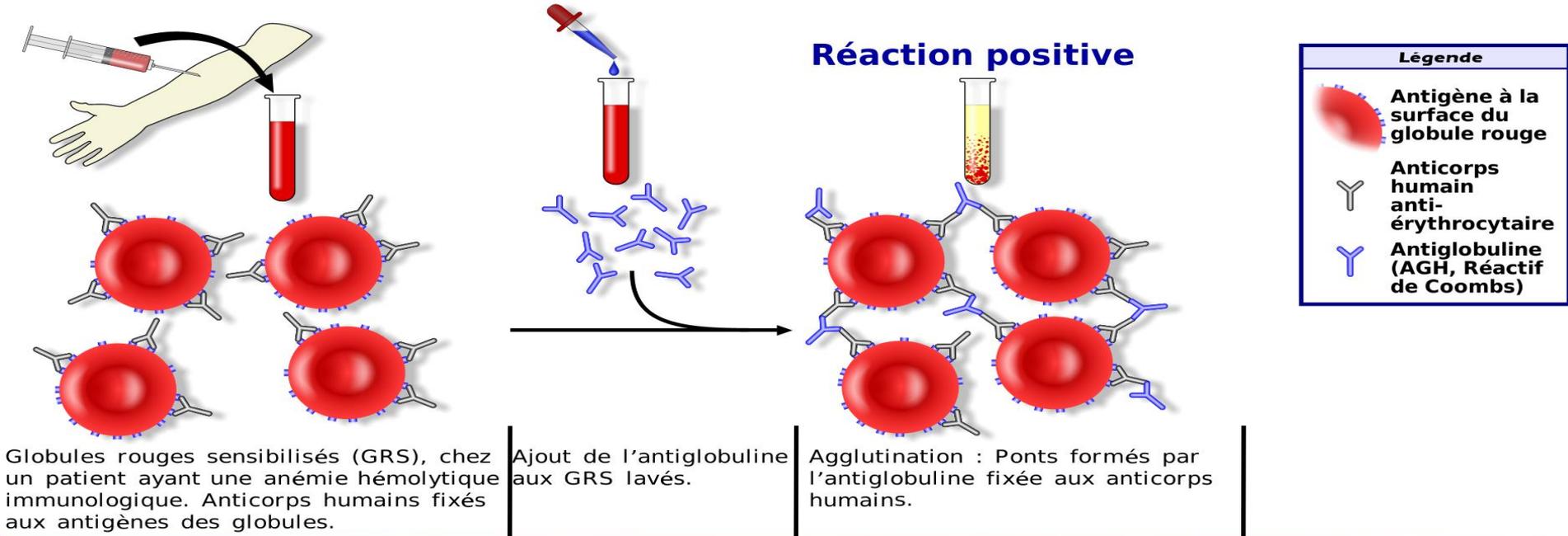
La majorité des anticorps de groupes sanguins sont des « anticorps irréguliers ».

La recherche d'anticorps irréguliers ou recherche d'agglutinines irrégulières (**Coombs indirect**) est un examen d'**immuno-hématologie** permettant de mettre en évidence et d'identifier la spécificité d'**anticorps** anti-érythrocytaires présents dans le **sérum** d'un malade pour prévenir un **choc transfusionnel** et ou chez une femme **enceinte** en vue de détecter une **incompatibilité foëto-maternelle**.

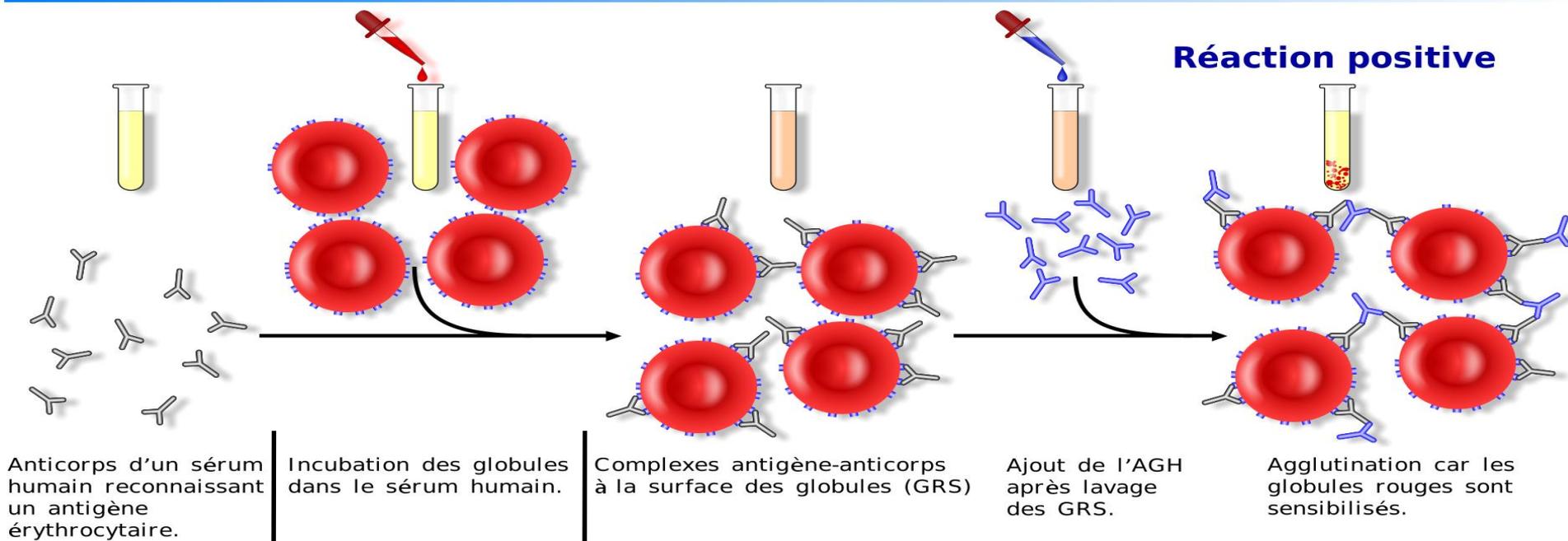
Le test direct à l'antiglobuline (Coombs direct) permet de mettre en évidence la présence d'anticorps fixés sur les érythrocytes. Ce test est donc utilisé pour le diagnostic de la **maladie hémolytique du nouveau-né**, et dans le diagnostic des **anémies hémolytiques auto-immunes**, ou des **incompatibilités transfusionnelles**.

Le test indirect à l'antiglobuline (Coombs indirect) permet de mettre en évidence un **anticorps irrégulier** non agglutinant dans un sérum ou un antigène de **groupe sanguin** sur des érythrocytes.

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline



Test de Coombs indirect / Test indirect à l'antiglobuline



Dans **un premier temps** il s'agit d'une recherche d'agglutinine irrégulière. La mise en présence d'un sérum ou d'un plasma inconnu et d'érythrocytes portant des antigènes connus permet la fixation des anticorps recherchés sur ces érythrocytes et de les sensibiliser.

Dans un **second temps**, l'action de l'antiglobuline permettra la mise en évidence de cette éventuelle sensibilisation. Si la réaction est positive, c'est que des anticorps ont été fixés sur ces érythrocytes, et étaient donc présents dans le sérum ou plasma objet de la recherche d'agglutinine irrégulière.

Ce même test est également utilisé pour réaliser l'épreuve de compatibilité (**cross matching**), qui consiste à tester le sérum ou plasma du malade avec un échantillon des érythrocytes du concentré érythrocytaire que l'on envisage de transfuser.

Si la réaction est positive, c'est qu'il existe un anticorps vis à vis des globules du donneur, et que la transfusion envisagée est **incompatible**, sans que l'on sache quel système de groupe sanguin est en cause. Une autre **unité de sang** devra donc être choisie, et, bien sûr, testée.

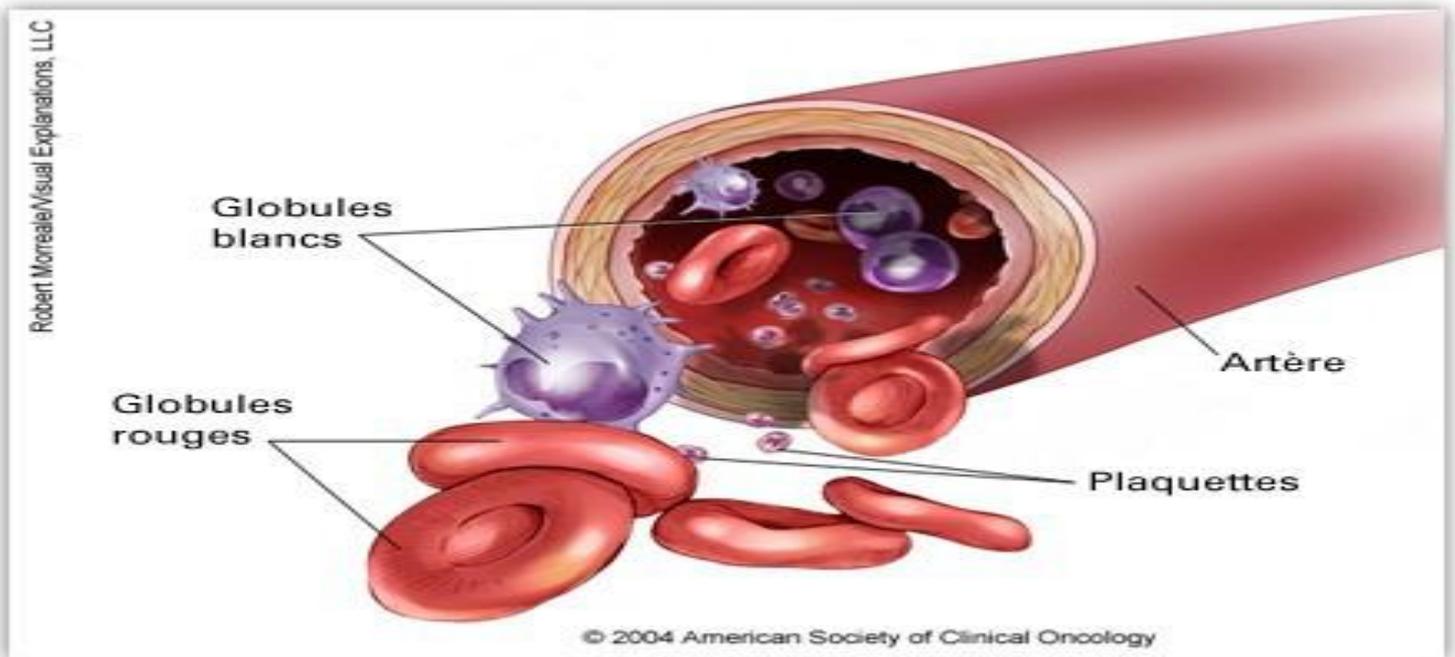
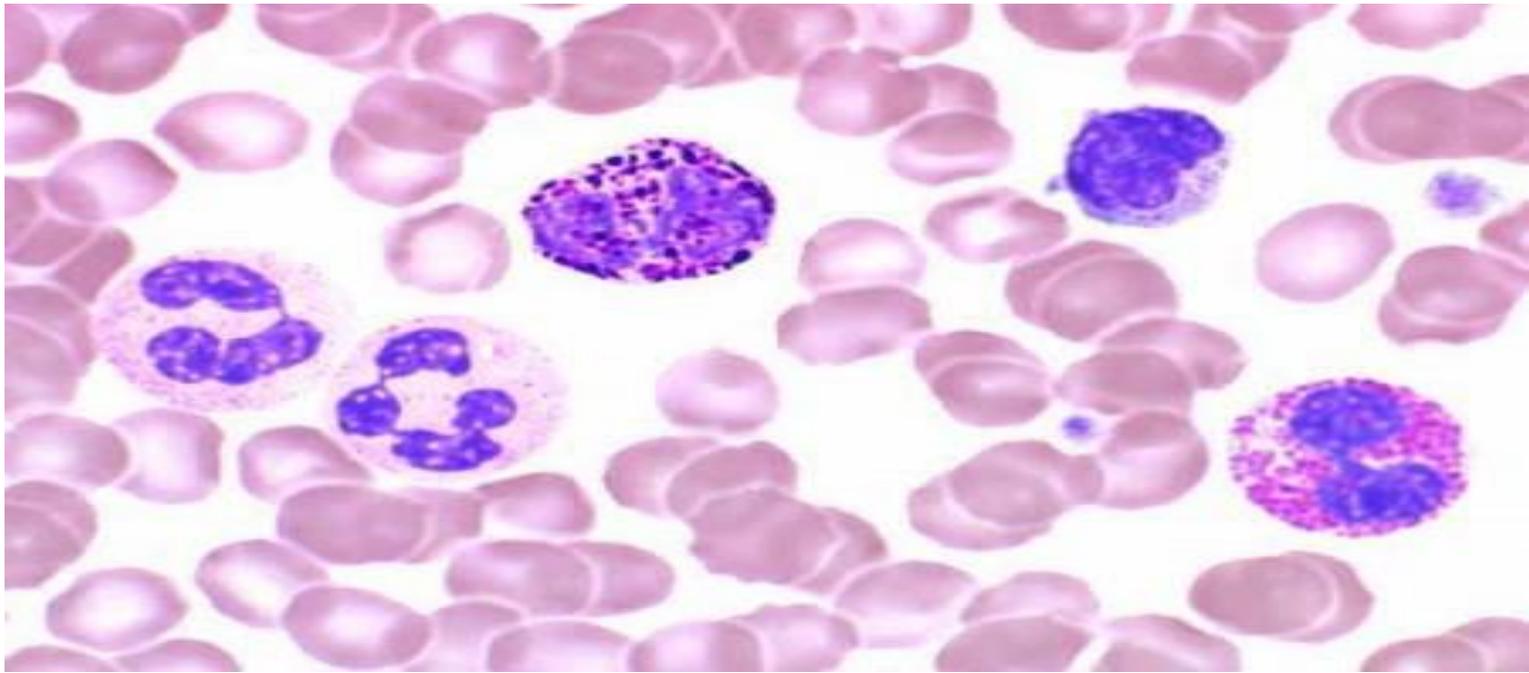
Cytologie Sanguine et médullaire normale et pathologique

**Cytologie Sanguine et médullaire
normale et pathologique**

**Cytologie Sanguine et médullaire
normale et pathologique**

**Cytologie Sanguine et médullaire
normale et pathologique**

Cellules normales du sang et de la moelle rouge des os

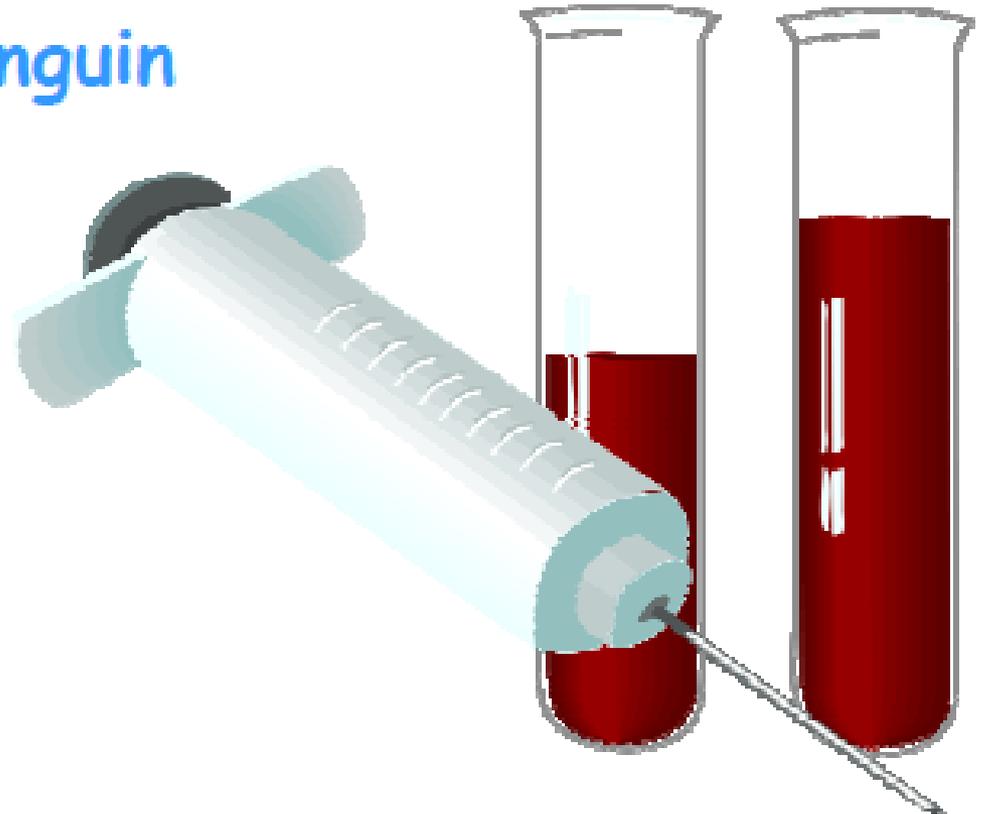


I- Le prélèvement de Sang

II- Les différents types d'analyses de sang

III- L'Hémogramme ou NFS

IV - Le Frottis Sanguin



I- LE PRELEVEMENT DE SANG



Patient à jeûn

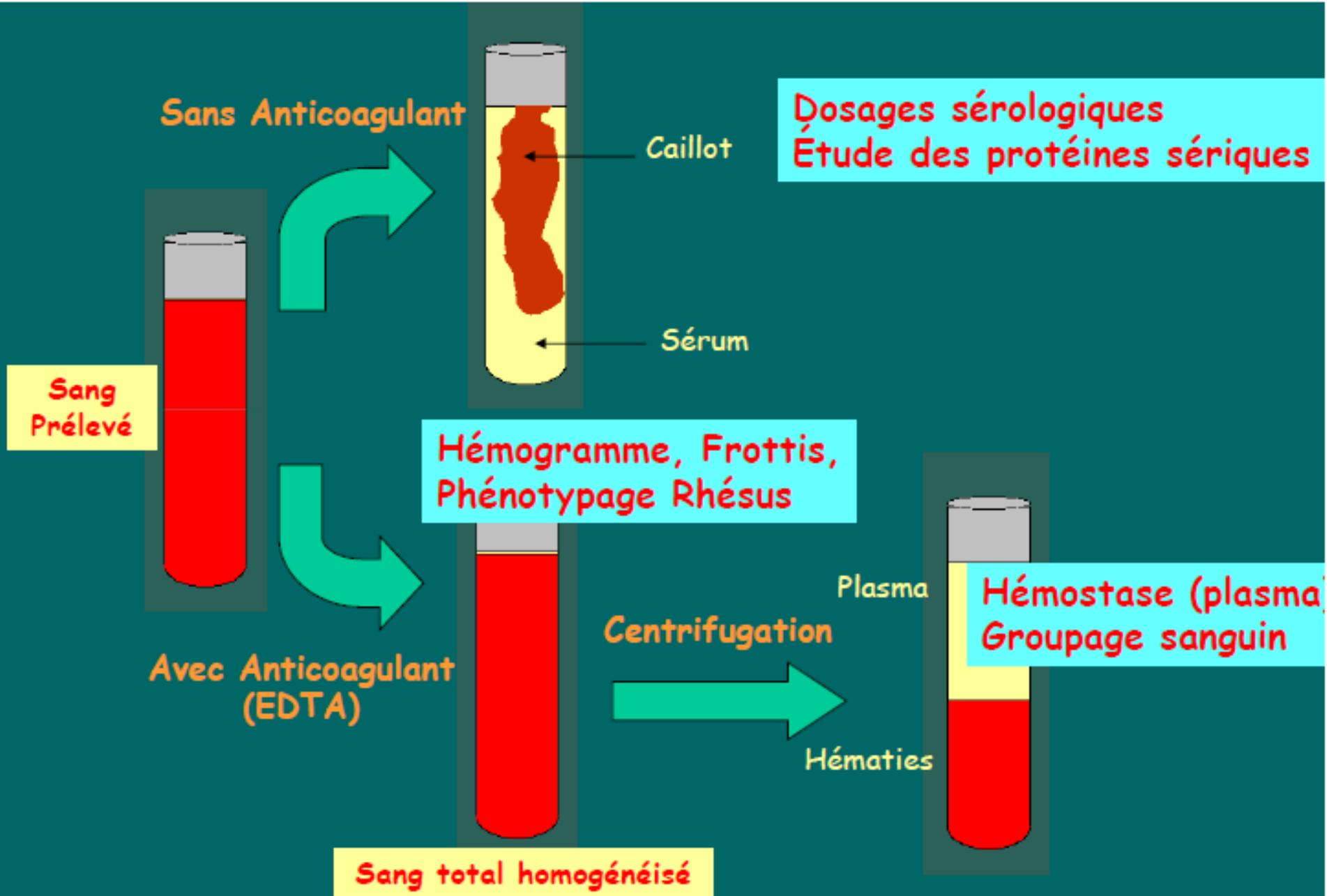
Sang veineux

Tube sous vide

2 à 5 ml

Le prélèvement est effectué le plus souvent au niveau des veines du pli du coude, du dos de la main ou dans la veine fémorale (bébé ou adulte dans certaines circonstances). Il existe des orientations dans le choix des tubes de recueil des échantillons en fonction des analyses prescrites.

Les Différents Traitements Du Prélèvement Sanguin



Sans Anticoagulant



Sang Prélevé



Caillot

Sérum

Dosages sérologiques
Étude des protéines sériques

Hémogramme, Frottis,
Phénotypage Rhésus

Avec Anticoagulant
(EDTA)



Sang total homogénéisé

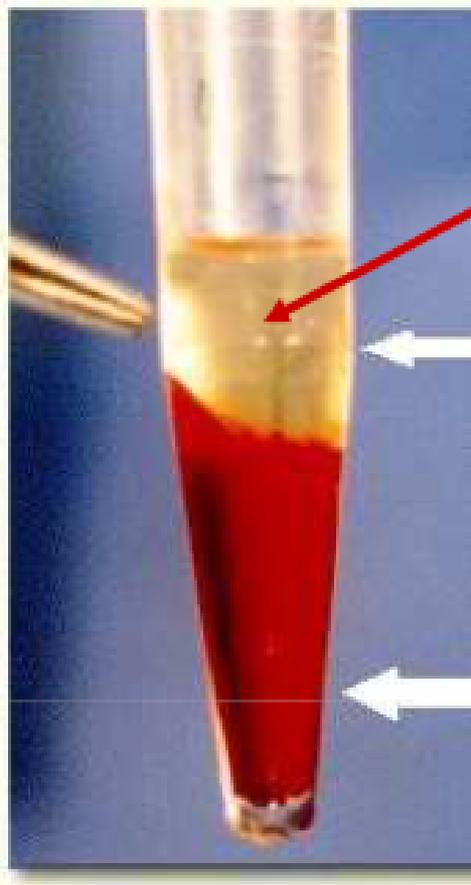
Centrifugation



Plasma

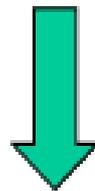
Hématies

Hémostase (plasma)
Groupe sanguin



Sérum

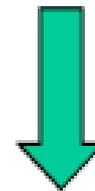
Obtenu par
sédimentation du sang
(coagulation)



Contient toutes les
protéines du sang
Sauf **Fibrinogène**

Plasma

Obtenu par
centrifugation du
sang + anticoagulant



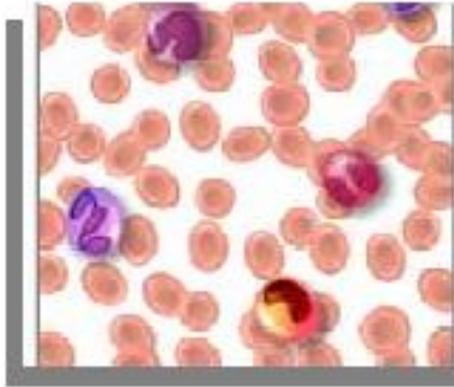
Contient toutes les
protéines du sang

Donc :

Sérum = Plasma - Fibrinogène

II- LES DIFFERENTS TYPES D' ANALYSES DE SANG

Hématologie



Bactériologie-Parasitologie



Biochimie



Hématologie

Cytologie

NFS (Numérations sanguines et Formule Leucocytaire),
Frottis, Réticulocytes, Vitesse de sédimentation (VS)

Immuno-Hématologie

Groupage sanguin ABO/Rhésus, Recherche des anticorps
(RAI)

Sérologie virale, bactérienne et parasitaire

Bilan de coagulation

Temps de Céphaline Kaolin, Taux de Prothrombine,
Temps de saignement, Fibrinogène... INR



Bactériologie-Parasitologie

Frottis Sanguin (Parasites...)

Hémoculture (Septicémie...)



Biochimie



Ionogramme
Bilan lipidique (cholestérol)
Glycémie
Bilan Martial (Fer)
Protéines (albumine, urée)
Enzymes (transaminases)
Hormones
Marqueurs tumoraux
Gaz...

III- LA NUMERATION FORMULE SANGUINE (NFS) OU HEMOGRAMME



Analyse quantitative du sang:

Numération des éléments figurés



Hématies
Leucocytes
Plaquettes
Réticulocytes

Établissement formule leucocytaire

Mesure de l'hématocrite



Hte

Dosage Hémoglobine



THS

Mesures Constantes érythrocytaires



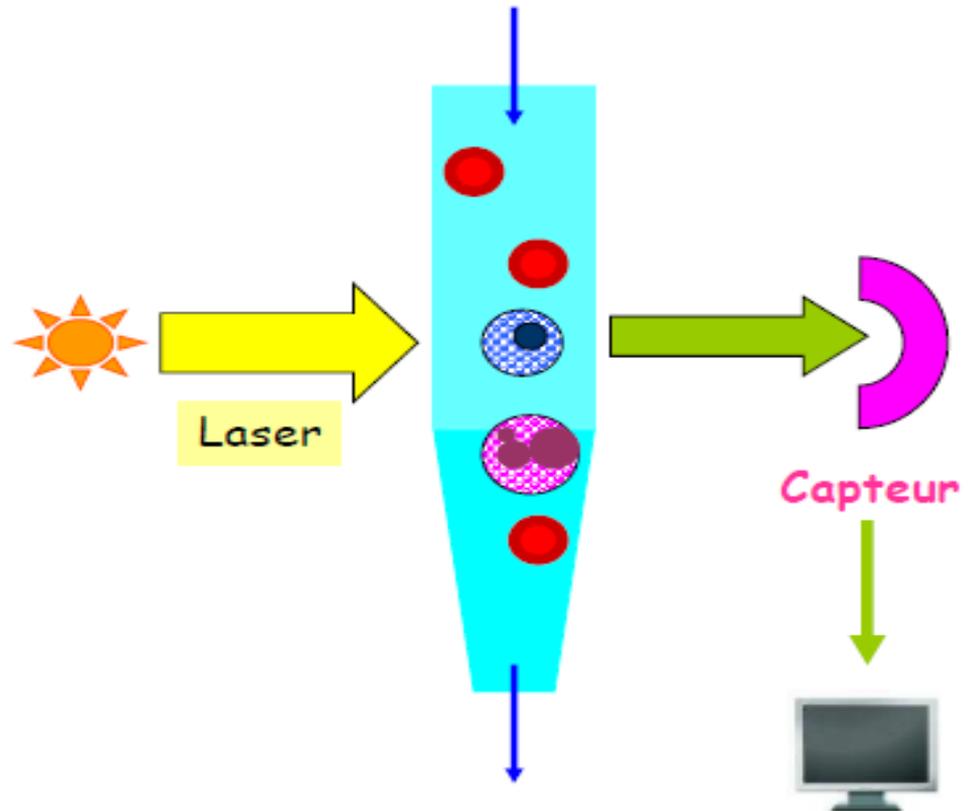
VGM
CCMH
TCMH



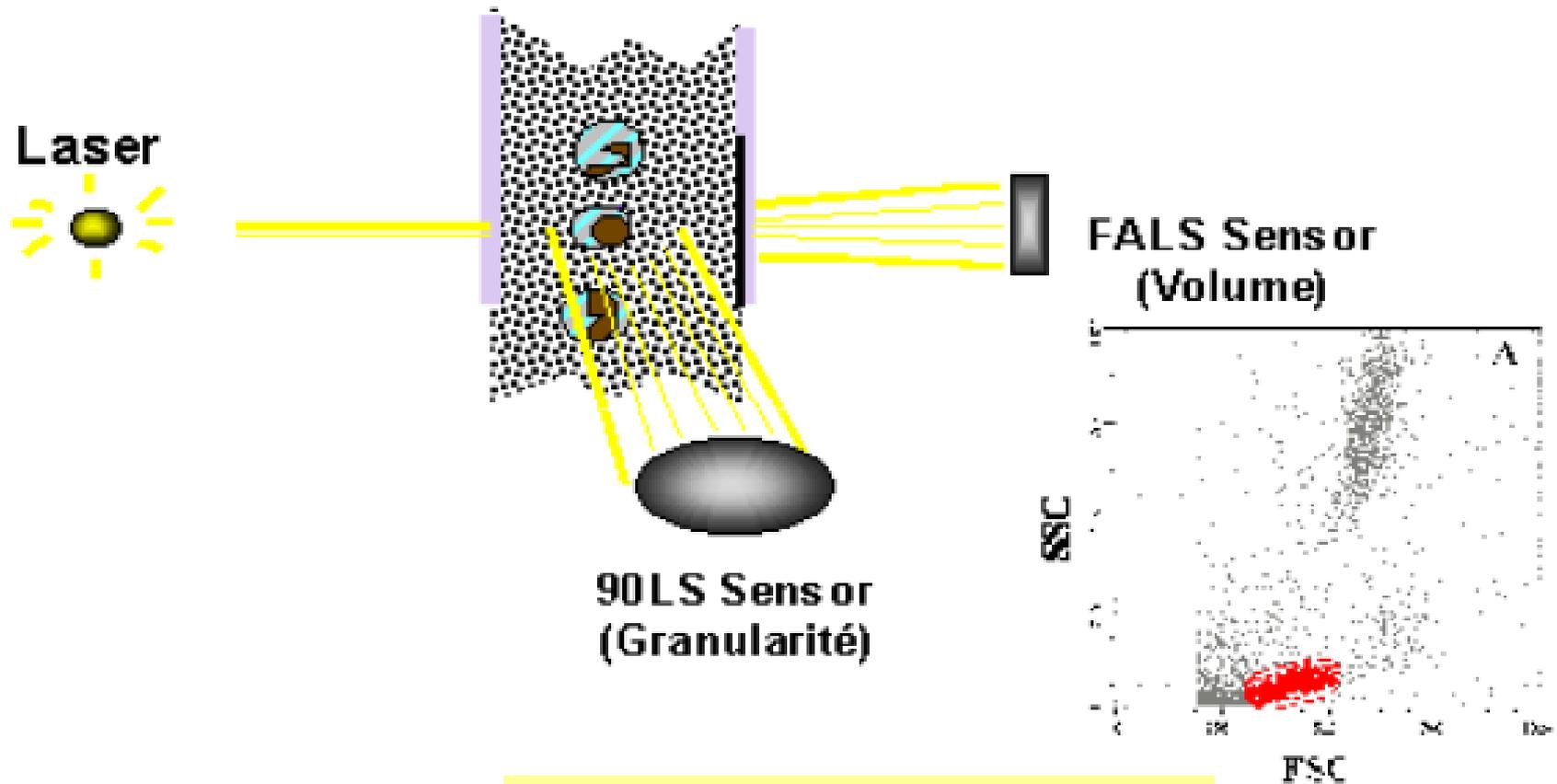
Jusqu'à 2000 échantillons de sang
traités par jour

Technique de mesure : cytométrie en flux

Définition : technique permettant de trier des cellules en les faisant défiler à grande vitesse dans le faisceau d'un **laser**. La lumière ré-émise par ces particules (par diffusion ou fluorescence) permet de classer la population de ces cellules suivant plusieurs critères.

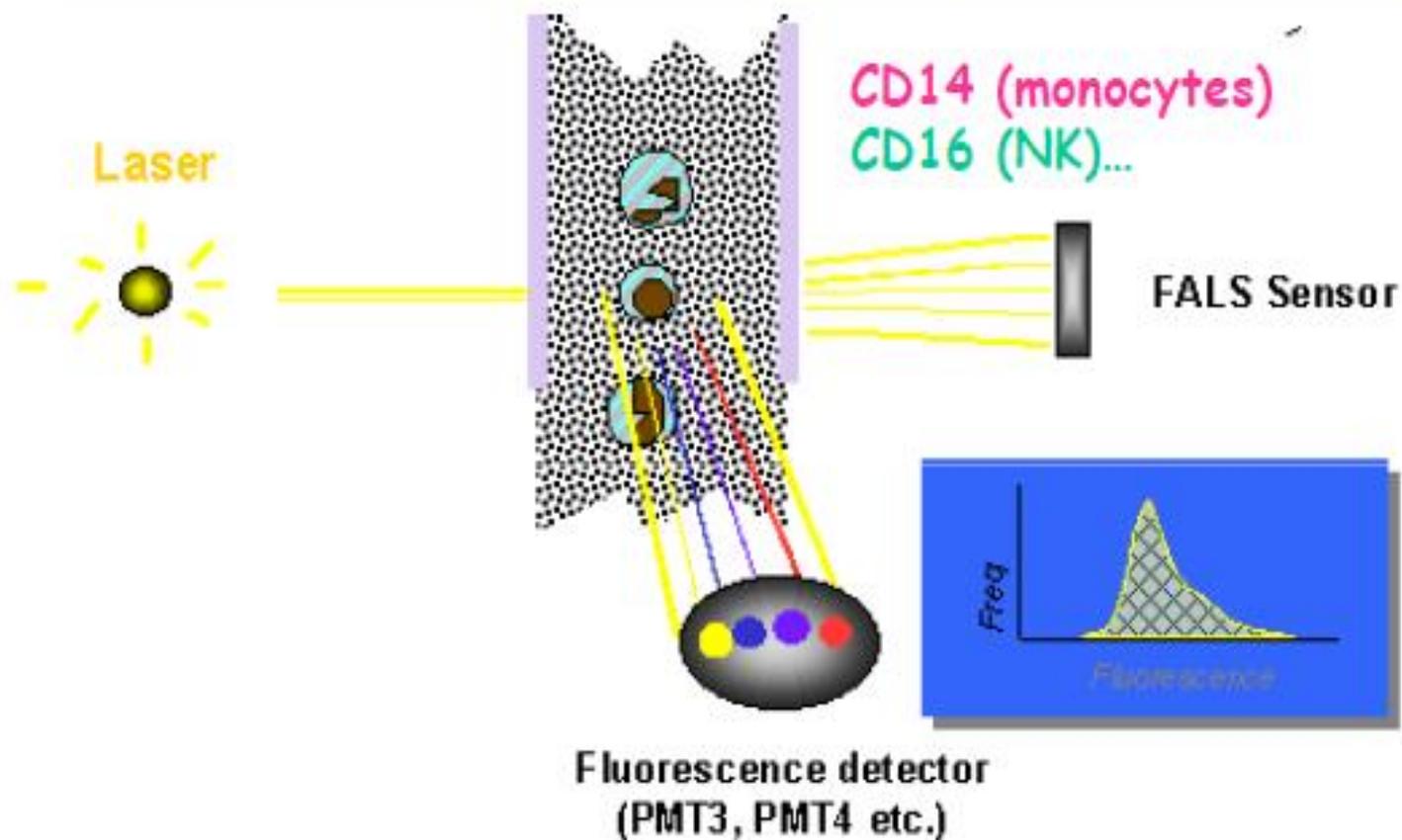


1) Analyse **directe** de la lumière diffusée



Taille des cellules
Volume
Nombre...

2) Analyse de la fluorescence émise après marquage des cellules



→ Type de cellules (granulocytes, lymphocytes...)

Valeurs Usuelles de La NFS

1) Les Hématies

Femme

Homme

Hématies (millions par mm^3)*

4.0 - 5.3

4.2 - 5.7

Taux d'Hémoglobine
(g/100ml de sang)*

11-15

12-17

Hématocrite (%)**

37 - 46

40 - 52

VGM (micron cube)*
*Volume globulaire moyen

80 - 100

TCMH (pg/ GR)**
**Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

28 - 32

CCMH (%)**
**Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

30 - 35

Réticulocytes (par mm^3)*

50-100 $\cdot 10^3$

* Paramètre mesuré

** Paramètre calculé

2) Les Leucocytes

Leucocytes (Unités/mm³)

4000 - 10 000

Formule Leucocytaire

Neutrophiles (Unités/mm³)

3000 - 6000

(40 - 75 %)

Éosinophiles (Unités/mm³)

50 - 500

(1 - 6 %)

Basophiles (Unités/mm³)

0 - 90

(0 - 1 %)

Lymphocytes (Unités/mm³)

1500 - 3000

(20 - 45 %)

Monocytes (Unités/mm³)

100 - 700

(2 - 10 %)

3) Les Plaquettes

(Unités/mm³)

150 000 - 400 000

a) NUMERATION DES GLOBULES ROUGES

Quel renseignements cliniques ???

Nombre

Paramètres

Hématocrite

Taux d'hémoglobine

VGM

TCMH

CCMH



Variations du nombre de globules rouges

AUGMENTATION



Polyglobulie

(+50%)



Réactive (altitude...)
EPO
Tumeur médullaire...

DIMINUTION



Anémie



Anémie Ferriprive
Anémie génétique
Anémie aplasique
Anémie régénérative...



b) PARAMETRES LIES AUX GLOBULES ROUGES

Quel renseignements cliniques ???

Taux d'hémoglobine sanguin **THS**

Hématocrite **Hte**

Volume Globulaire Moyen **VGM**

Concentration Corpusculaire
Moyenne en Hg

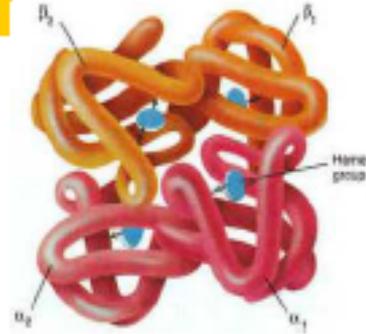
CCMH

Teneur Corpusculaire
Moyenne en Hg

TCMH

Constantes
érythrocytaires

1) Le taux d'hémoglobine sanguin (THS):



Définition : Quantité d'hémoglobine en grammes contenue dans un Décilitre de sang (100 ml)

Valeurs normales : 11 à 17 g/dL



Variations

↗ **Polyglobulie** (à confirmer par numération)

Anomalie de la production des globules rouges

↘ **Anémie** (pouvant ou non s'accompagner d'une diminution du nombre de GR)

2) Hématocrite

Définition : Rapport en % entre le volume moyen occupé par les hématies et le volume total du sang

$$Ht(\%) = \text{Volume globulaire} / \text{volume sanguin total} \times 100$$

Mesure : Centrifugation du sang prélevé avec anticoagulant dans un tube gradué ou directement lecteur d'hématocrite

Valeur moyenne : 37 à 52 %

Hématocrite

100%

45%

0%

Plasma

GB

GR



Variations



Polyglobulie (Dopage à l' EPO)...

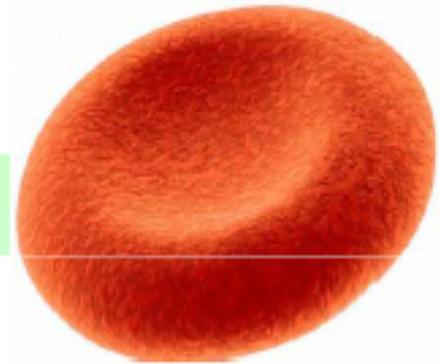
Anémie

3) Le Volume globulaire Moyen ou VGM

Définition : Volume moyen d'un globule rouge

Obtention : Mesuré par automate ou calculé

$$\text{VGM} = (\text{Hte \%} / \text{GR } 10^6/\text{mm}^3) \times 10$$



Valeur normale : 80 à 100 μm^3 ou fentolitres



Variations

Macrocytose

(Carence en folates et B12, Alcoolisme...)

Microcytose

(Anémie ferriprive, thalassémie...)

4) La CCMH ou Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine:

Définition : Pourcentage moyen du volume de l'hémoglobine par rapport à celui des globules rouges

Obtention : Calculé à partir du nombre de globules rouges et du taux d'hématocrite sanguin

$$\text{CCMH} = (\text{Hb g/dl} / \text{Hte}) \times 100$$

Valeur normale : 30 à 35 %



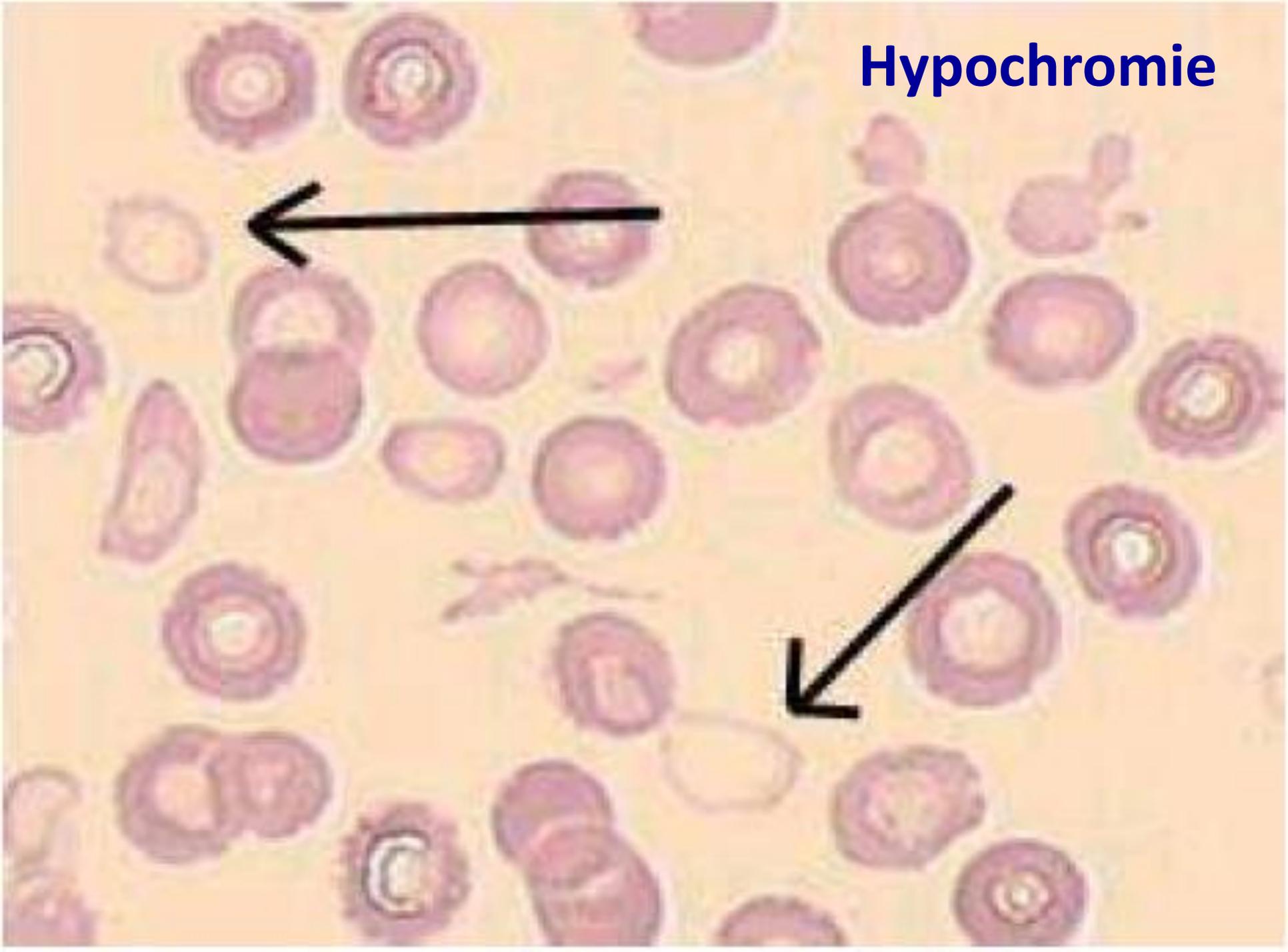
Variations



Hypochromie

(visible sur frottis car hématies claires)
(Anémie ferriprive...)

Hypochromie



5) La TCMH ou Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine:

Définition : Masse moyenne d'hémoglobine contenue dans un globule rouge et exprimée en pg

Obtention : Calculé à partir du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine sanguin

$$\text{TCMH} = (\text{Hb g/dl} / \text{GR } 10^6/\text{mm}^3) \times 10$$

Valeur normale : 28 à 32 pg/GR



Variations



Hypochromie

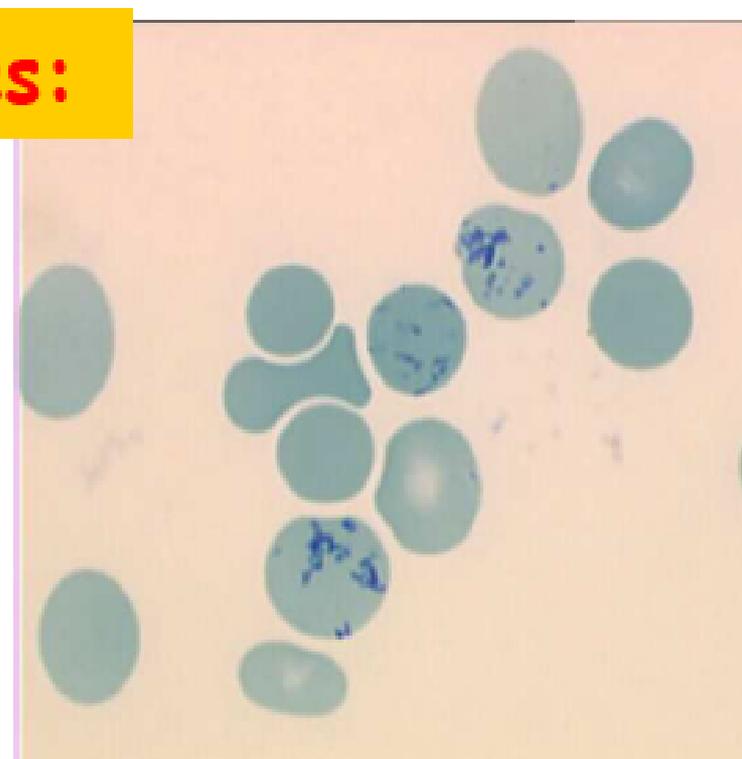
(Anémie ferriprive...)

6) Le nombre de réticulocytes:

Jeunes globules rouges qui quittent la moelle osseuse

Valeur normale

50 000 à 100 000/mm³
soit 1 % des globules rouges



Variations

Augmentation → anémie régénérative

Diminution → anémie arégénérative

Le taux des réticulocytes traduit l'activité de l'érythropoïèse
Médullaire

Donc élément important pour connaître la cause d'une anémie :

c) NUMERATION DES GLOBULES BLANCS

Quel renseignements cliniques ???

Nombre

Formule Leucocytaire

Variation du nombre de globules blancs



Hyperleucocytose

(leucémie, infection bactérienne, parasitose...)



Leucopénie

(allergie, intoxication, insuffisance médullaire, infection virale...)

Variations quantitatives des Globules Blancs

Polynucléaire neutrophile

Polynucléose neutrophile > 7000 / mm³

Neutropénie < 1800 / mm³

Agranulocytose < 500 / mm³

Polynucléaire éosinophile

Eosinophilie > 500 / mm³

Lymphocytes

Hyperlymphocytose > 4000 / mm³

Lymphopénie < 1500 / mm³

Monocytes

Monocytose > 700 / mm³



Neutrophiles



Polynucléose neutrophile

Infection bactérienne,
inflammation, nécrose, leucémie...

Neutropénie (agranulocytose!)

Médicaments toxiques,
chimiothérapie, leucémie..

Éosinophiles



Éosinophilie

Parasitose, Maladie allergique

Basophiles



Polynucléose basophile

Colite chronique, leucémie, maladie de Hodgkin ...

Lymphocytes



Hyperlymphocytose

Leucémie, hépatite,
Syndrome mononucléosique

Lymphopénie

SIDA, leucémie..

Monocytes



Monocytose

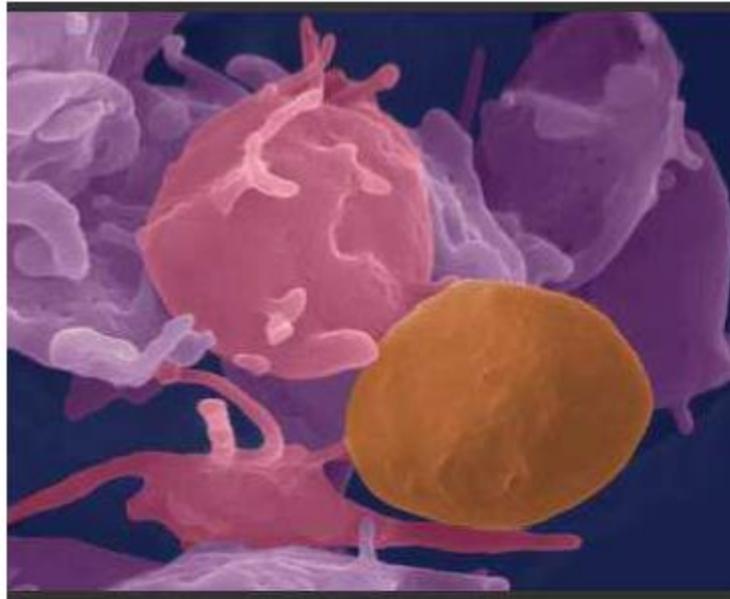
Leucémie, tuberculose, inflammation...

Monocytopénie

Leucémie

d) NUMERATION DES PLAQUETTES

Quels renseignements cliniques ???



Variation du nombre de plaquettes

150 000 à 400 000 /mm³

Thrombocytose (Augmentation du nombre de plaquettes)

Cirrhose, maladie de Vaquez, maladie infectieuse...

maladie de Vaquez = polyglobulie (augmentation importante du nombre de globules rouges)
augmentation du volume globulaire total.

Thrombocytopénie

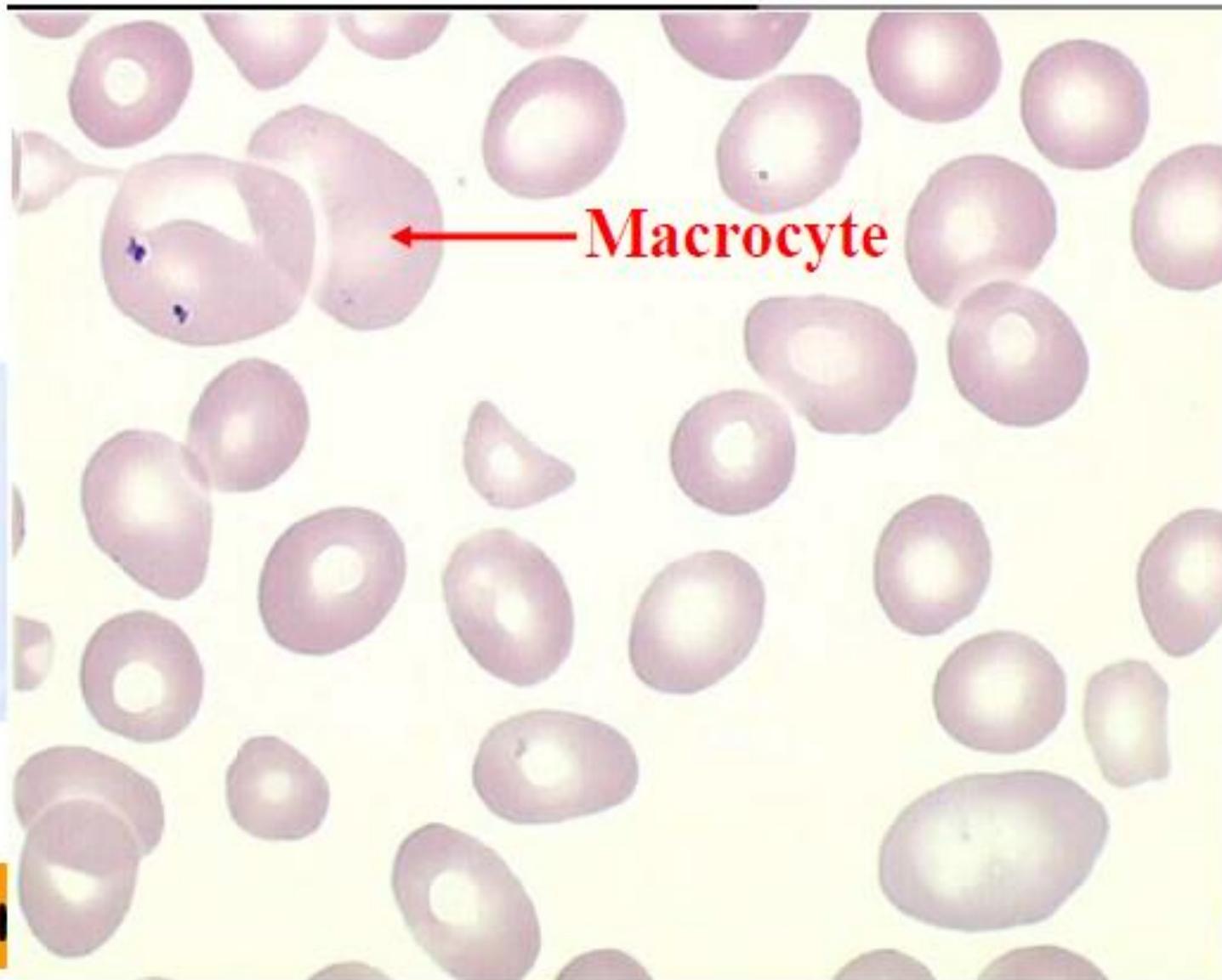
diminution du nombre de
plaquettes sanguines en dessous
du seuil de 150 000 plaquettes
par millimètre cube

Diminution de
la production

Aplasie médullaire, leucémie...

Augmentation de
la destruction

Infection virale, alcoolisme,
médicament, maladie auto-
immune (purpura)...



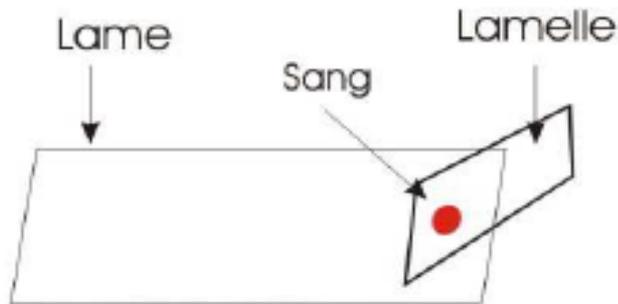
Confirmée par observation directe des GR sur frottis

IV-LE FROTTIS SANGUIN

Réalisation d'un frottis sanguin



Réalisation du frottis sanguin : Figures 1 à 4

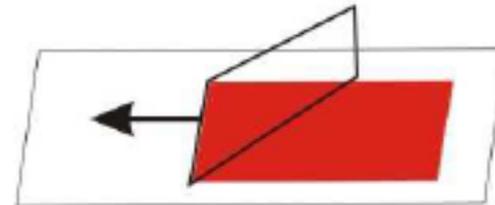


Mise en contact lamelle / sang



1 2

3 4



Réalisation du frottis

But du frottis : obtenir sur une lame de verre une couche unicellulaire d'éléments figurés du sang répartis sur tout le frottis et fixés dans l'aspect le plus proche de leur état physiologique

Coloration au May-Grünwald Giemsa

1- Fixation

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au dessus d'un bac de coloration.
- Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis.
Laisser agir 3 minutes.

2- Coloration au May-Grünwald

- Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant, le mélange est rapide.
- **Laisser agir 2 minutes.** (Préparer la dilution du Giemsa pendant ce temps.)
- Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.

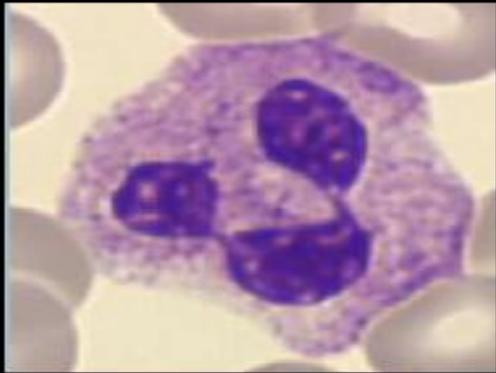
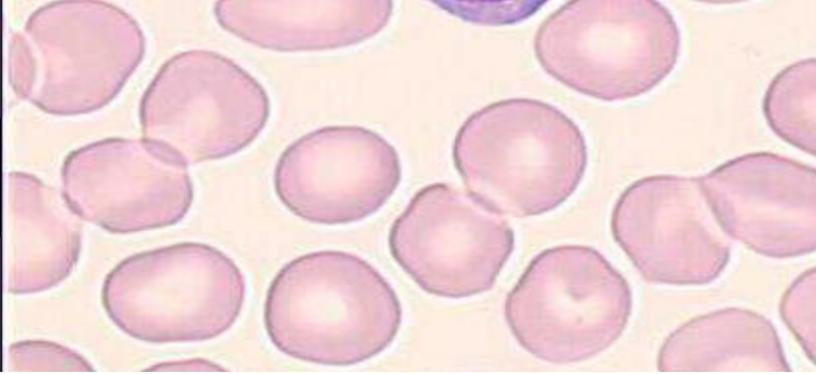
3- Coloration au Giemsa

- Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm³ d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.
- Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès que la lame est prête, mélanger en agitant doucement (le pouvoir colorant est maximum au moment du mélange).
- Déposer la lame (frottis en dessous) dans la boîte, **laisser agir 20 minutes** (Giemsa lent).
Rincer sous un jet d'eau neutre.

4- Séchage

- Laisser sécher la lame à l'air, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre.
- Attendre au moins **5 minutes** avant l'examen microscopique du frottis.

Les Hématies



G. Neutrophile

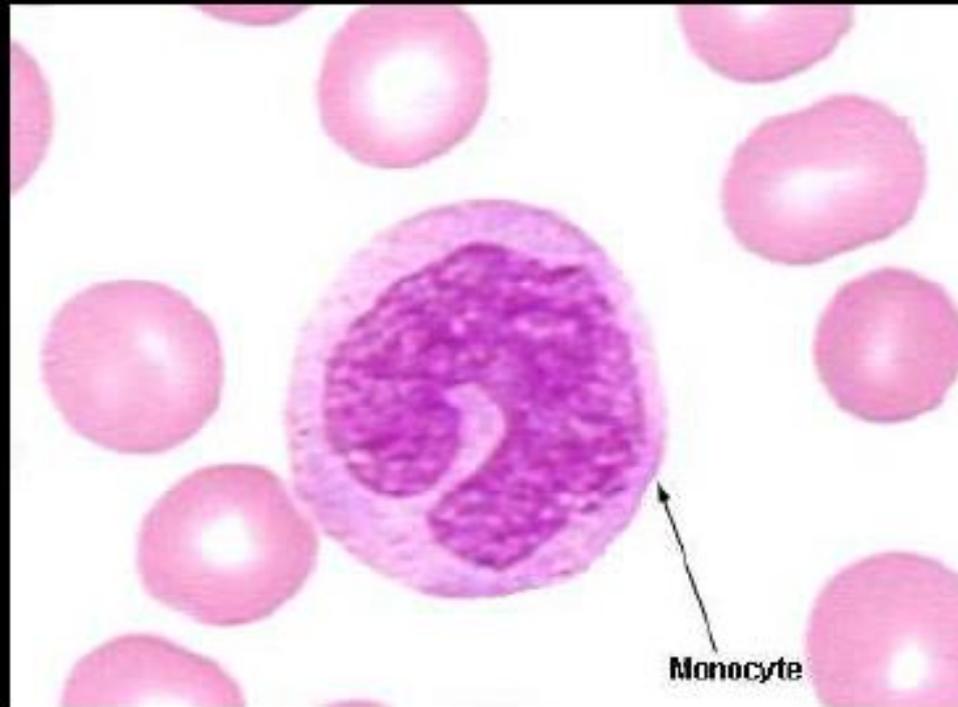


G. Éosinophile

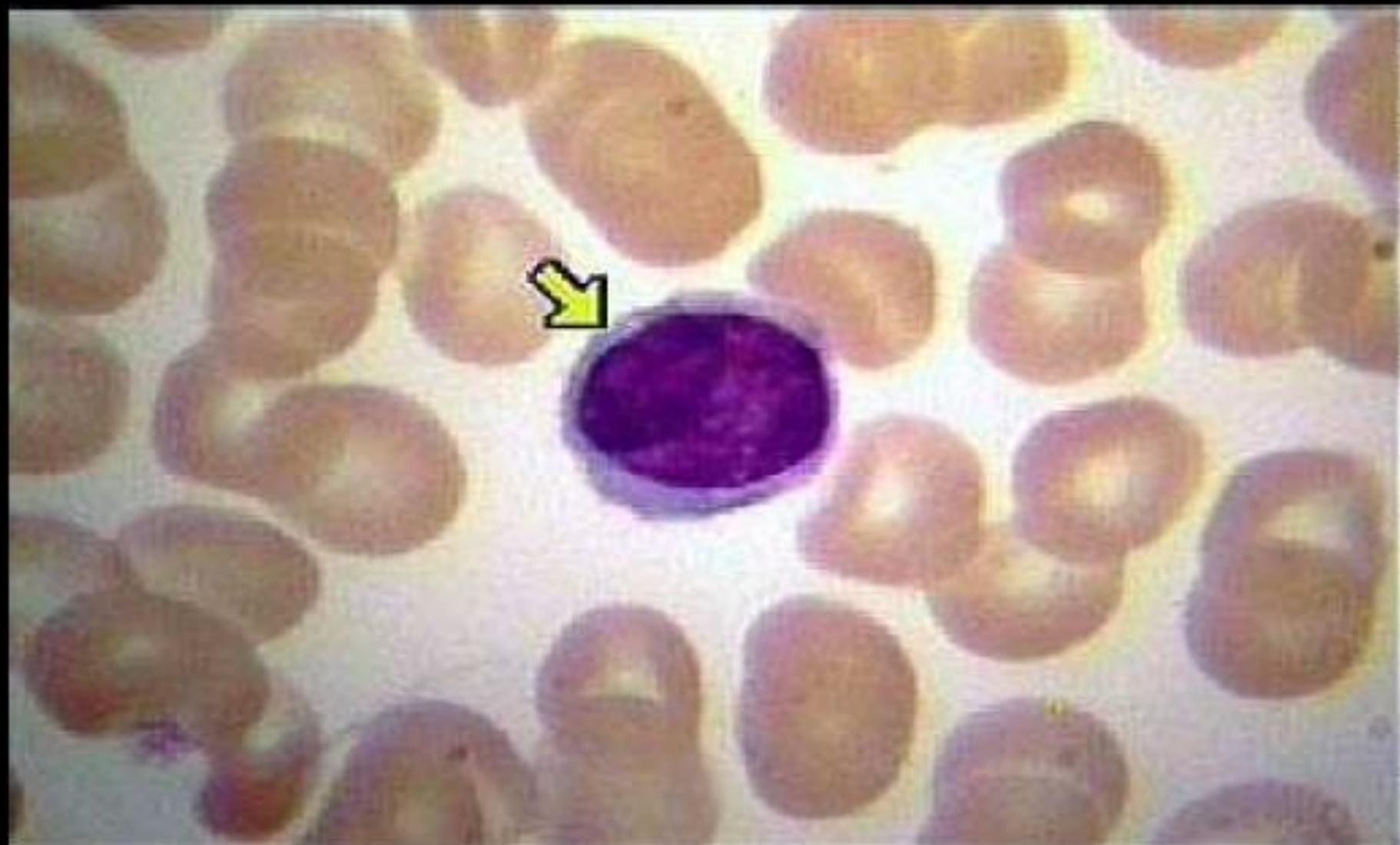


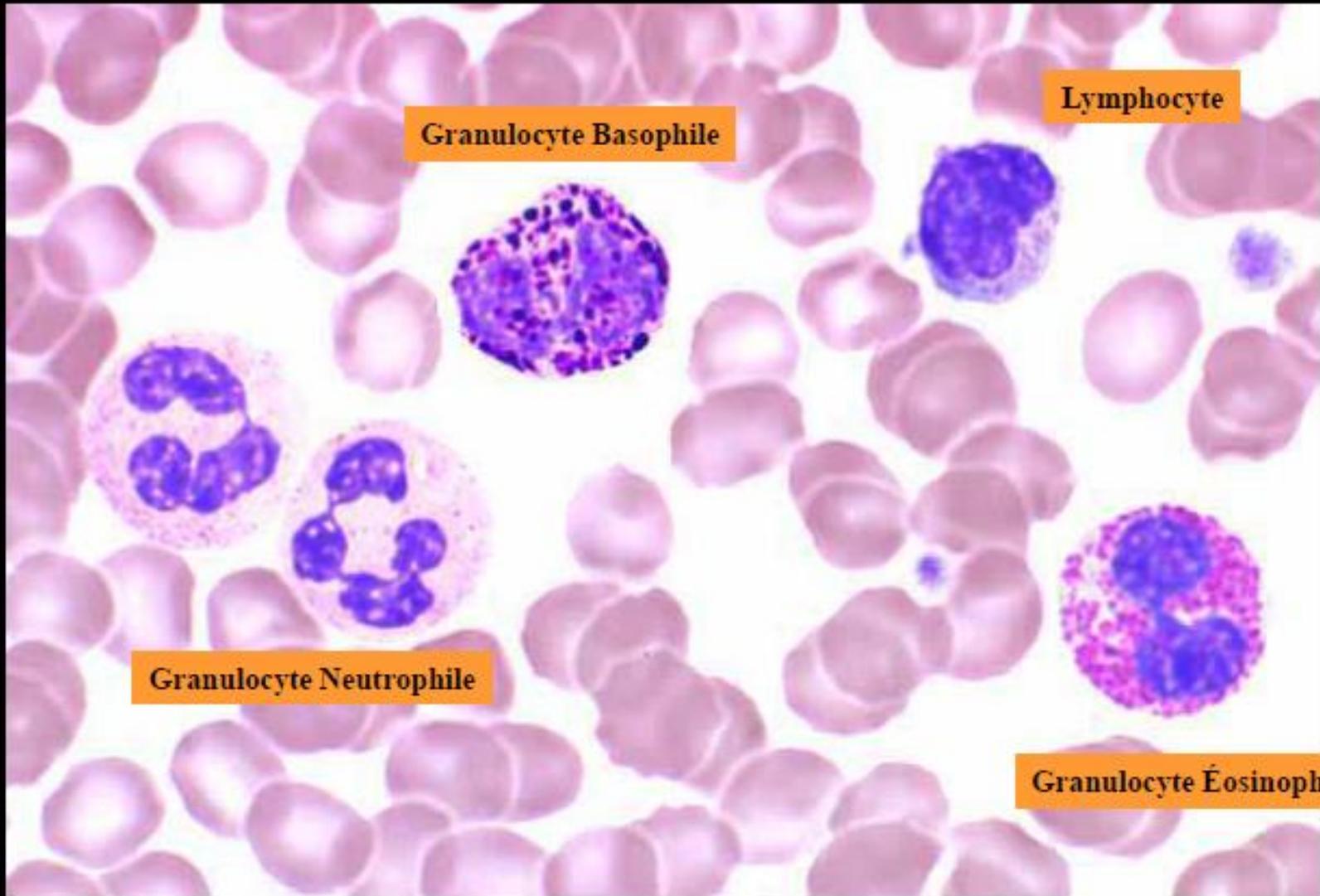
G. Basophile

Monocytes



Lymphocytes





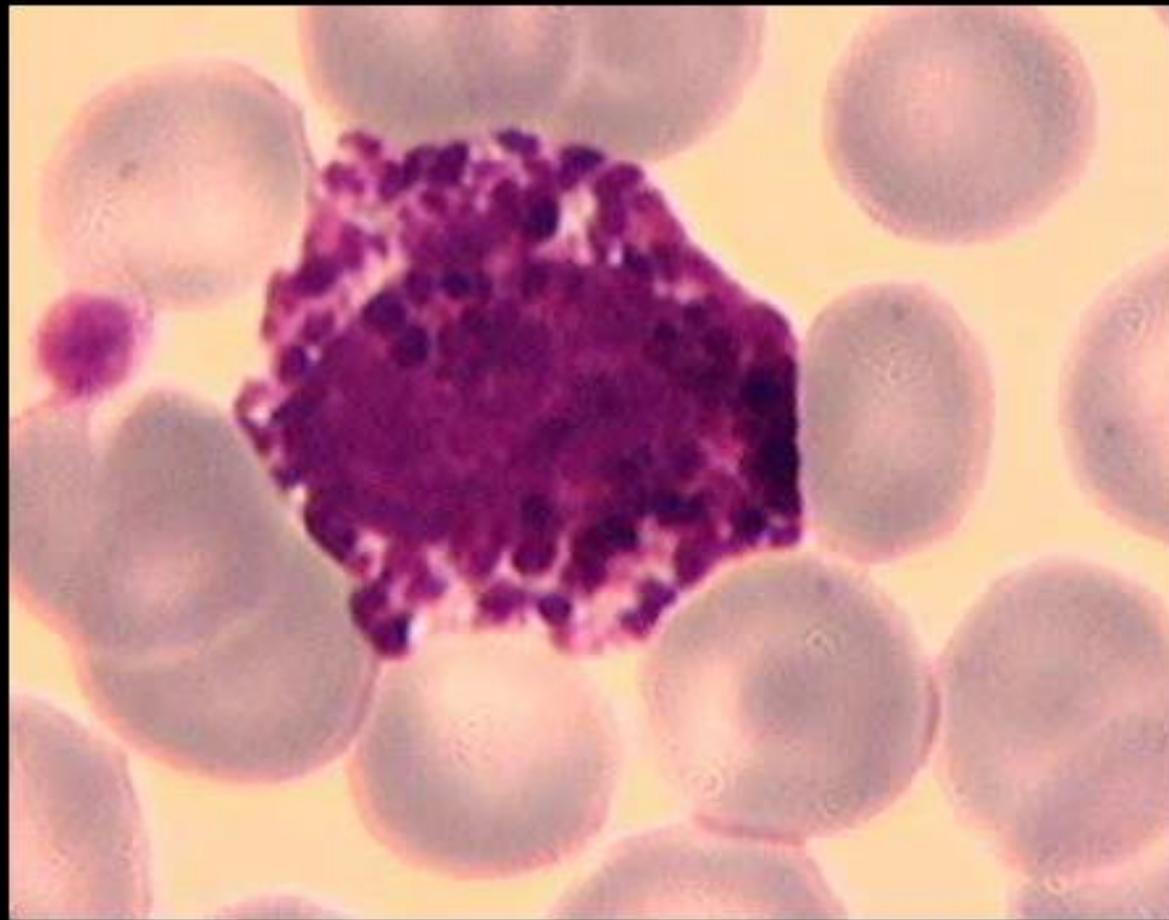
Granulocyte Basophile

Lymphocyte

Granulocyte Neutrophile

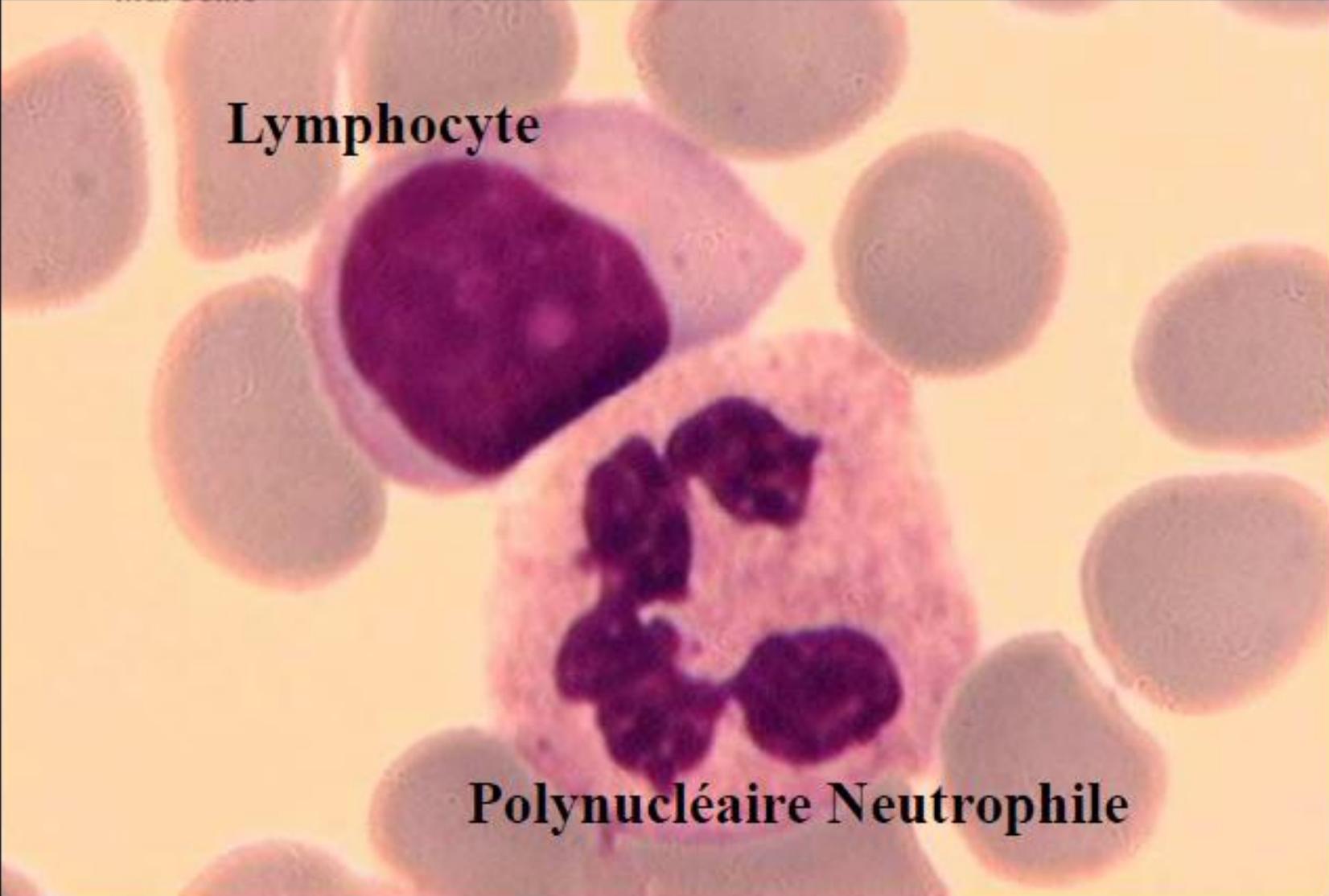
Granulocyte Éosinophile

Polynucléaires Basophiles



Polynucléaire Éosinophile





Lymphocyte

This image shows a microscopic view of a blood smear. The background is a light pinkish-orange color. In the center, there is a large, pale pink cell with a large, dark purple nucleus, labeled as a lymphocyte. Below it, there is a larger cell with a multi-lobed, dark purple nucleus, labeled as a polynuclear neutrophil. Several other smaller, pale pink cells are scattered around them.

Polynucléaire Neutrophile

Monocyte

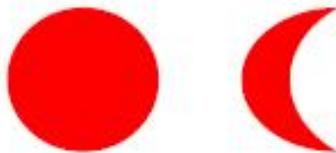


LE FROTTIS SANGUIN

permet



L'étude morphologique des
éléments figurés du sang
(forme, taille, couleur,
inclusions....)



La recherche de
certains parasites du
sang

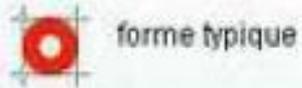


1) Caractéristiques morphologiques des cellules sanguines révélées par un frottis

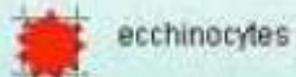


ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES HEMATIES





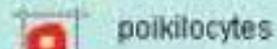
anomalies de forme



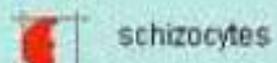
echinocytes



elliptocytes



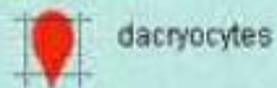
poikilocytes



schizocytes

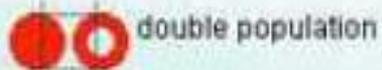


drépanocytes

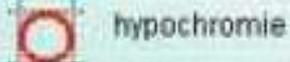


dacryocytes

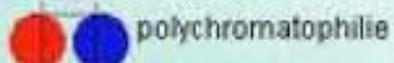
anomalies de couleur



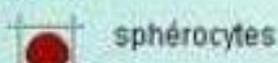
double population



hypochromie

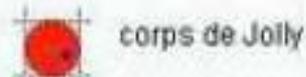


polychromatophilie

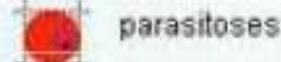


sphérocytes

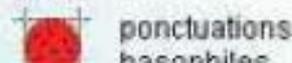
inclusions



corps de Jolly

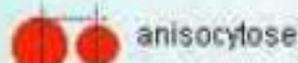


parasitoses

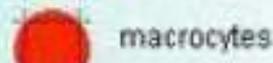


ponctuations basophiles

anomalies de taille



anisocytose



macrocytes

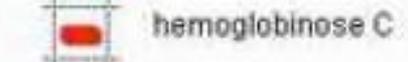


microcytes

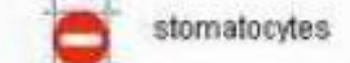
anomalies de membrane



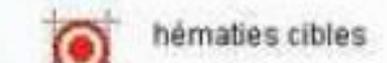
rouleaux



hemoglobinoze C



stomatocytes



hématies cibles

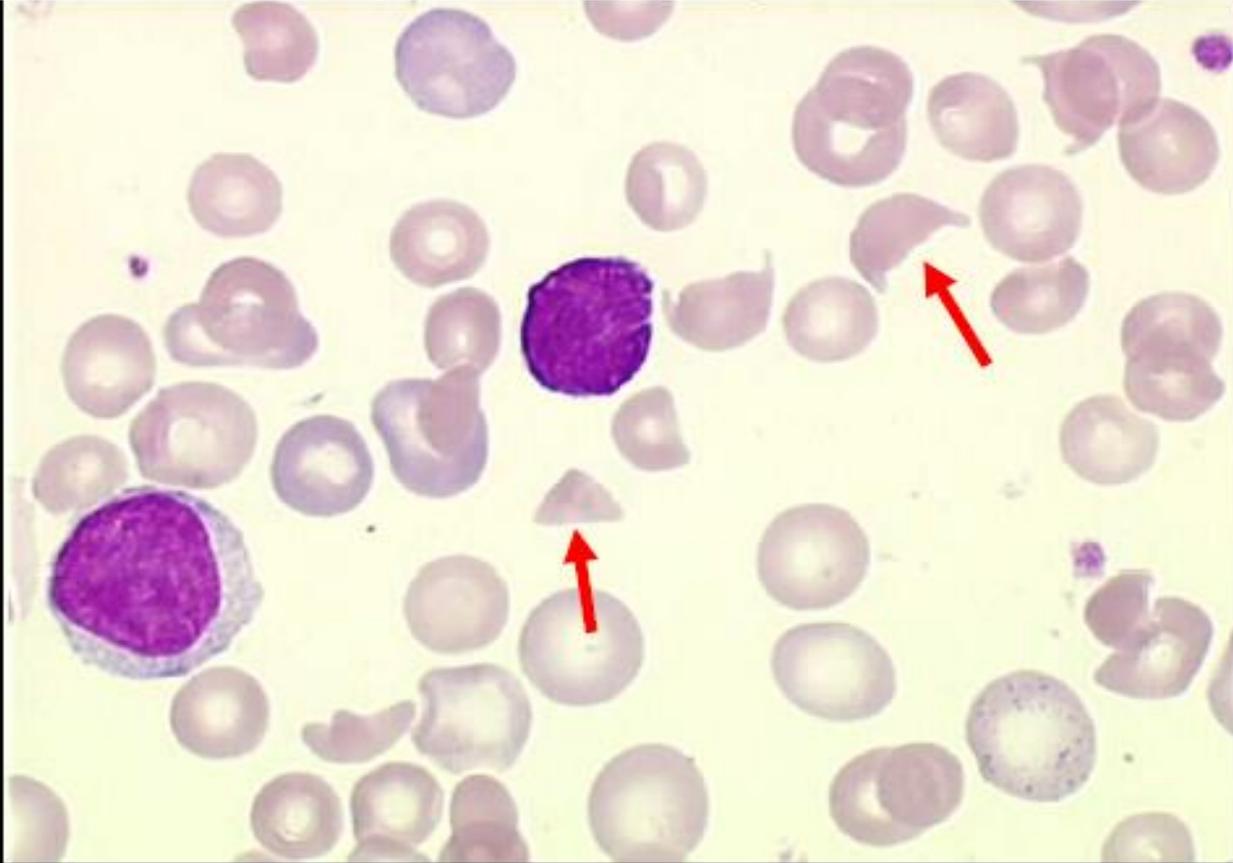


Retenir un exemple de chaque

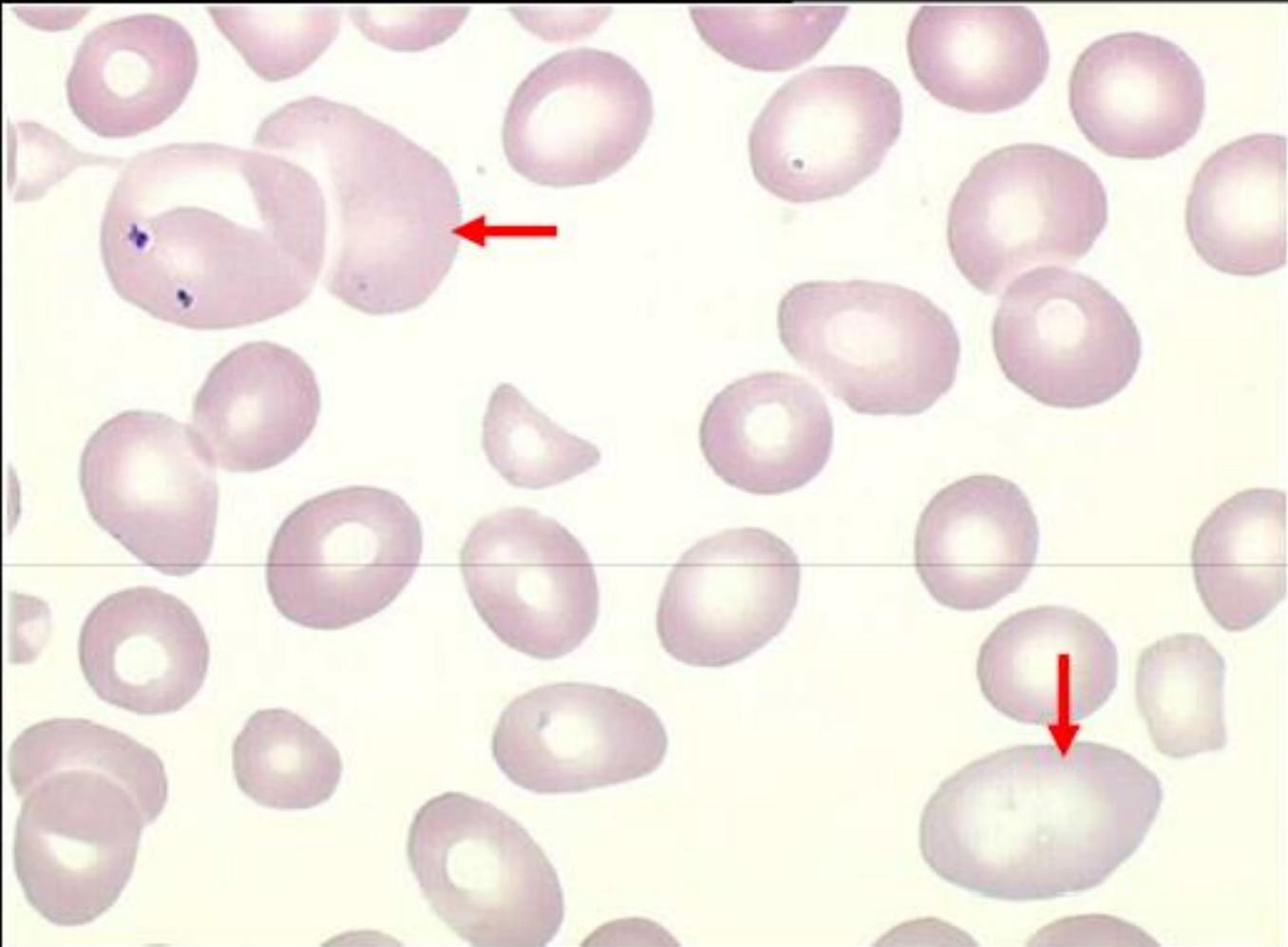


**Hématies falciformes ou drépanocytes,
caractéristiques de la Drépanocytose
(anémie falciforme)**

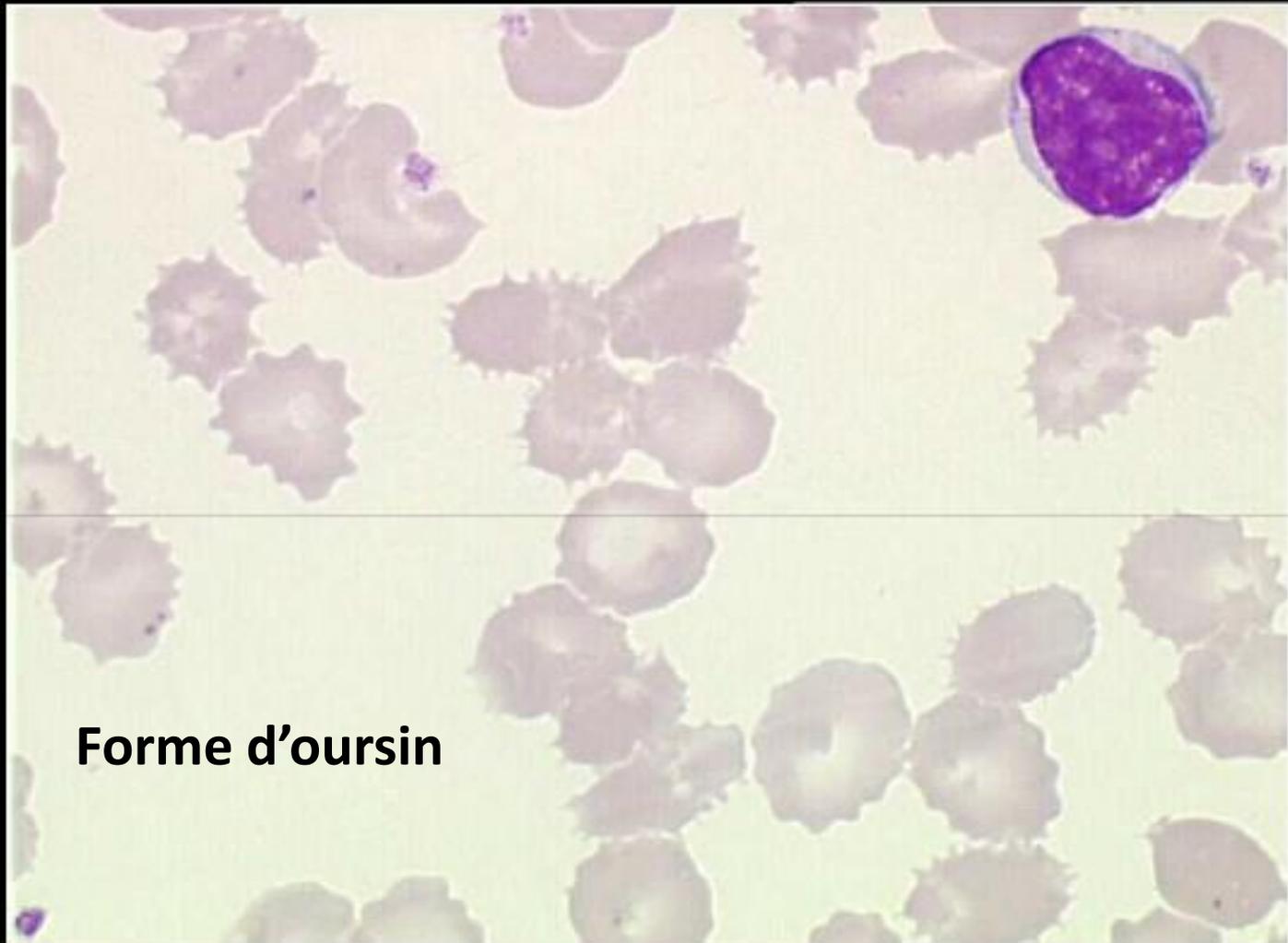
Les schizocytes sont des fragments de globule rouge à bords souvent déchiquetés, de forme extrêmement variable



Présence de **schizocytes**
(métastase médullaire, brûlure grave, anémie
carentielle...)

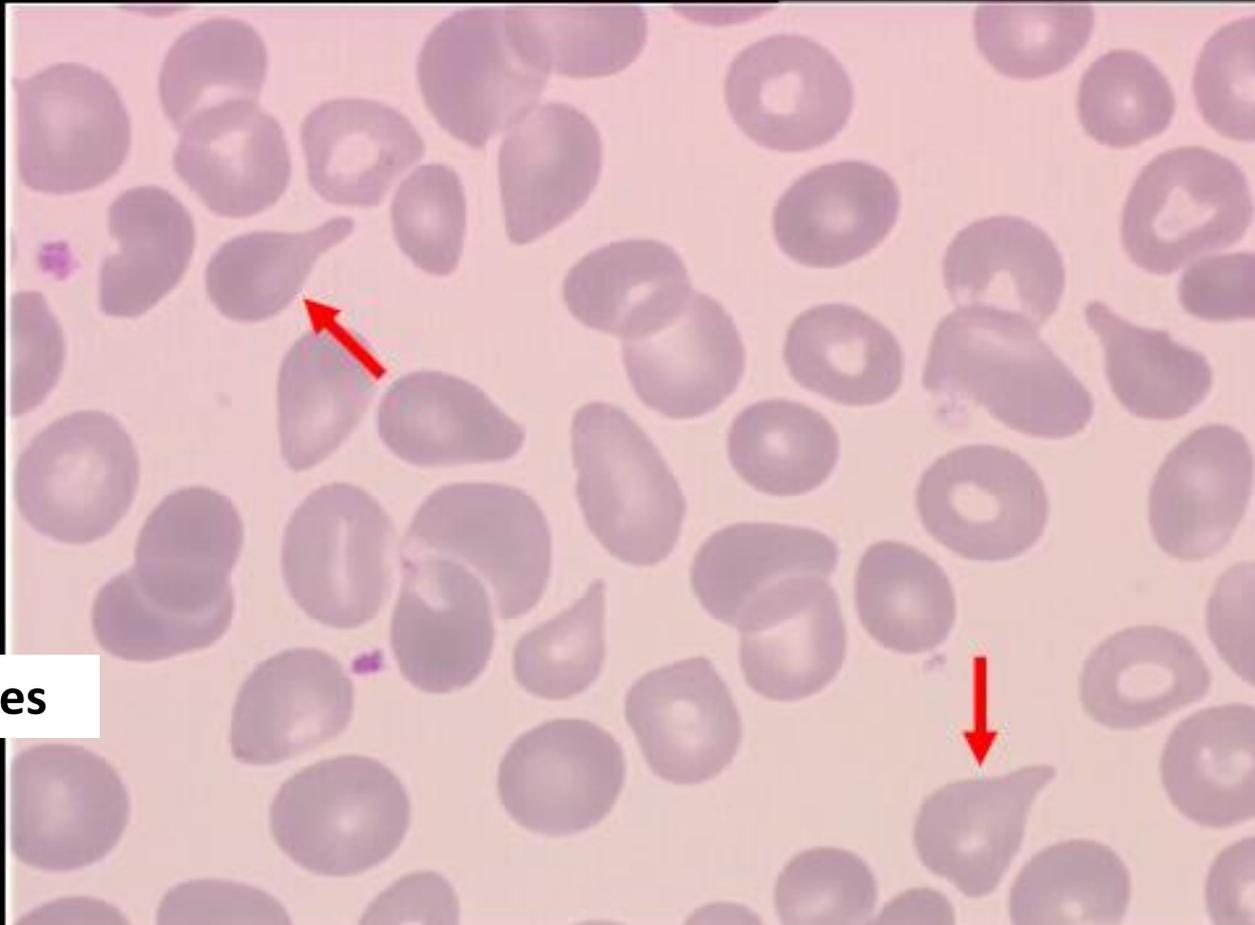


Présence de **macrocytes** pouvant révéler une **carence en B12 ou folates**



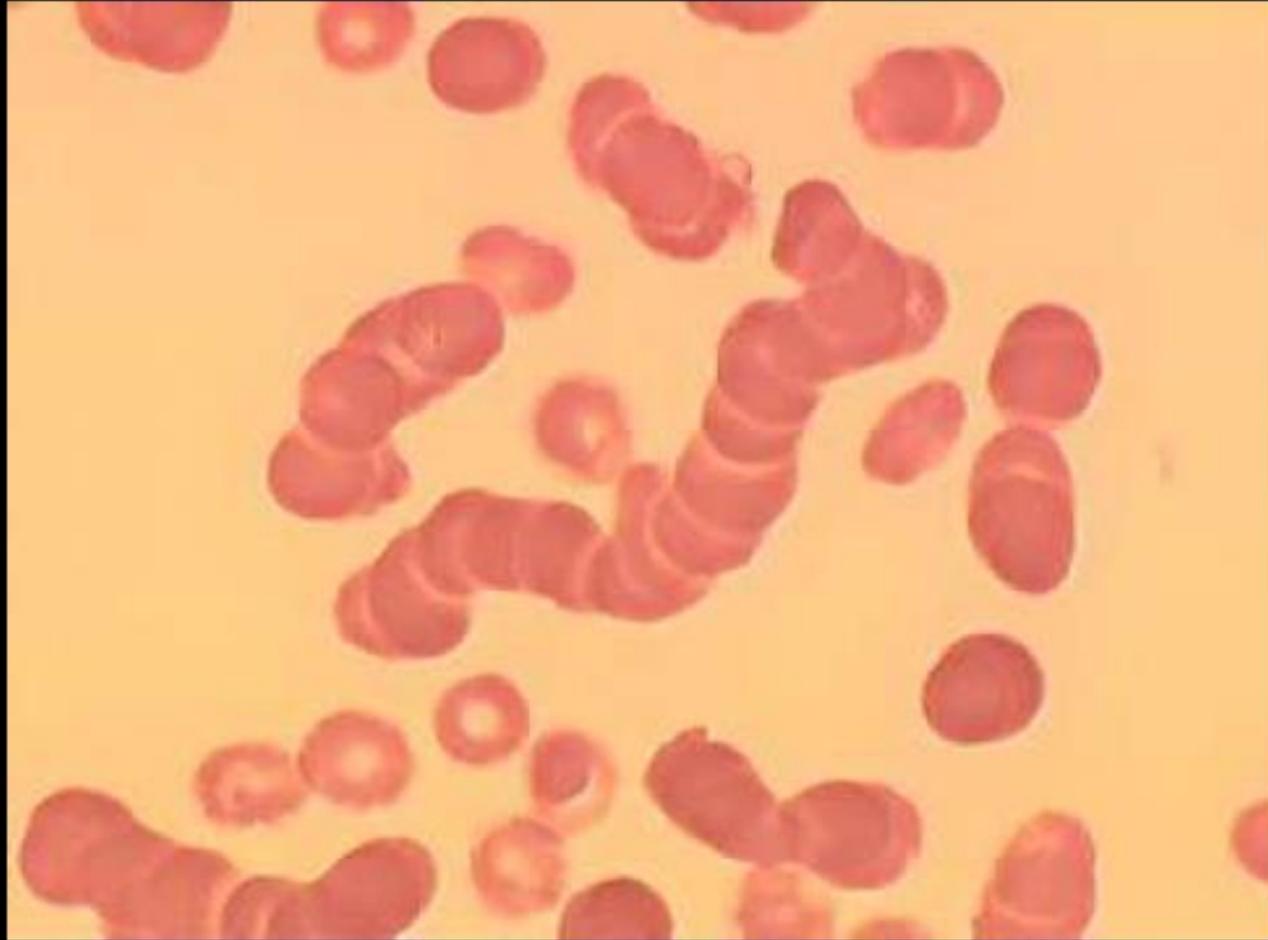
Forme d'oursin

Présence d'échinocytes pouvant révéler une
insuffisance rénale

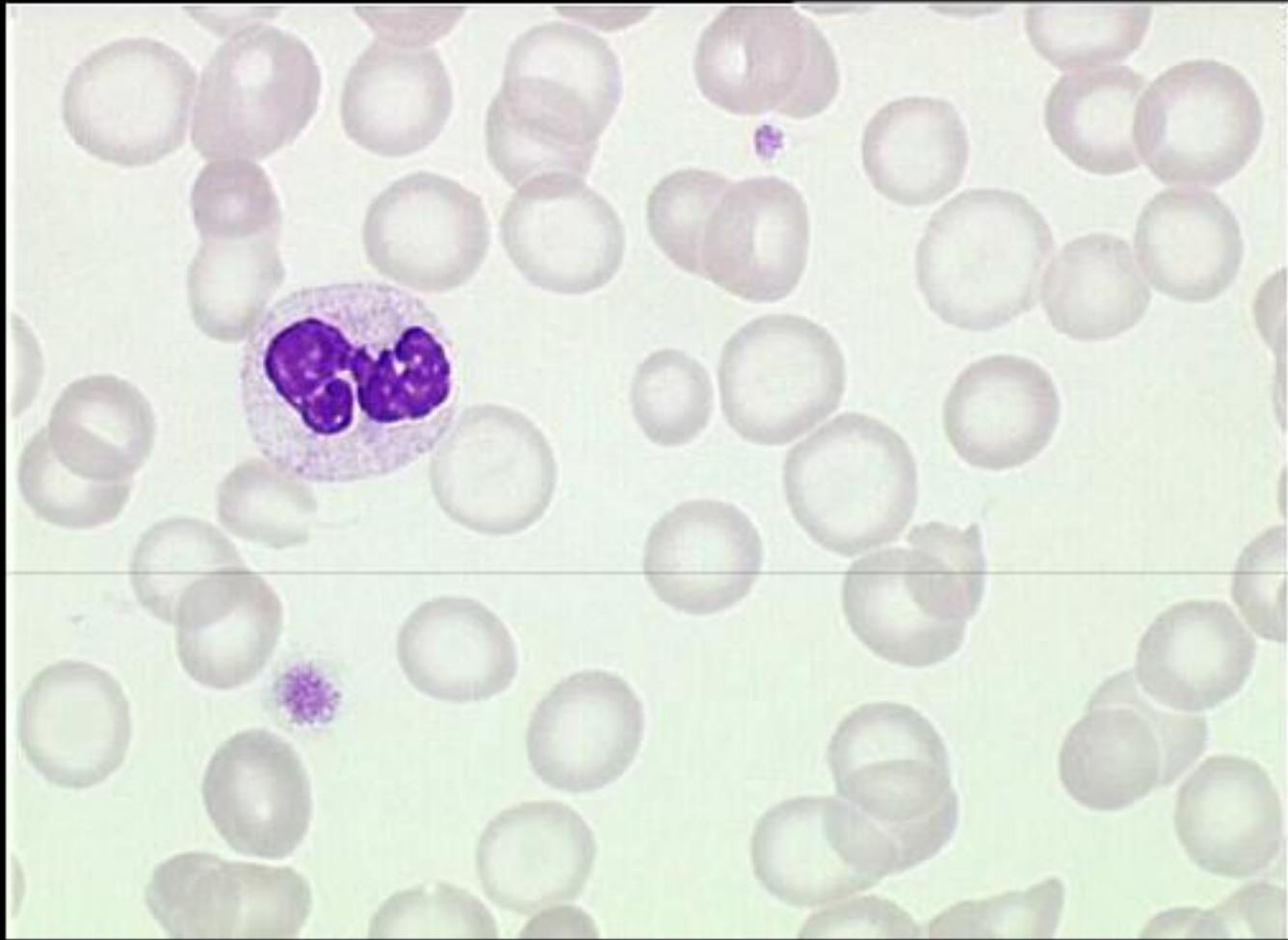


forme de larmes

Présence de **dacryocytes** pouvant révéler une **myelofibrose**

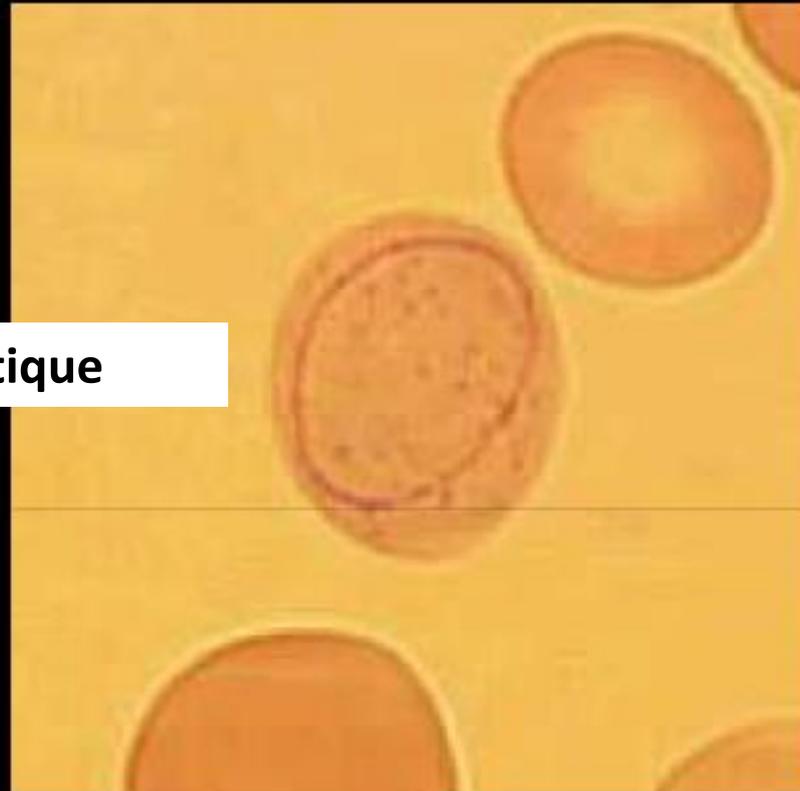


Hématies en rouleaux pouvant révéler une
inflammation ou un **Myélome**



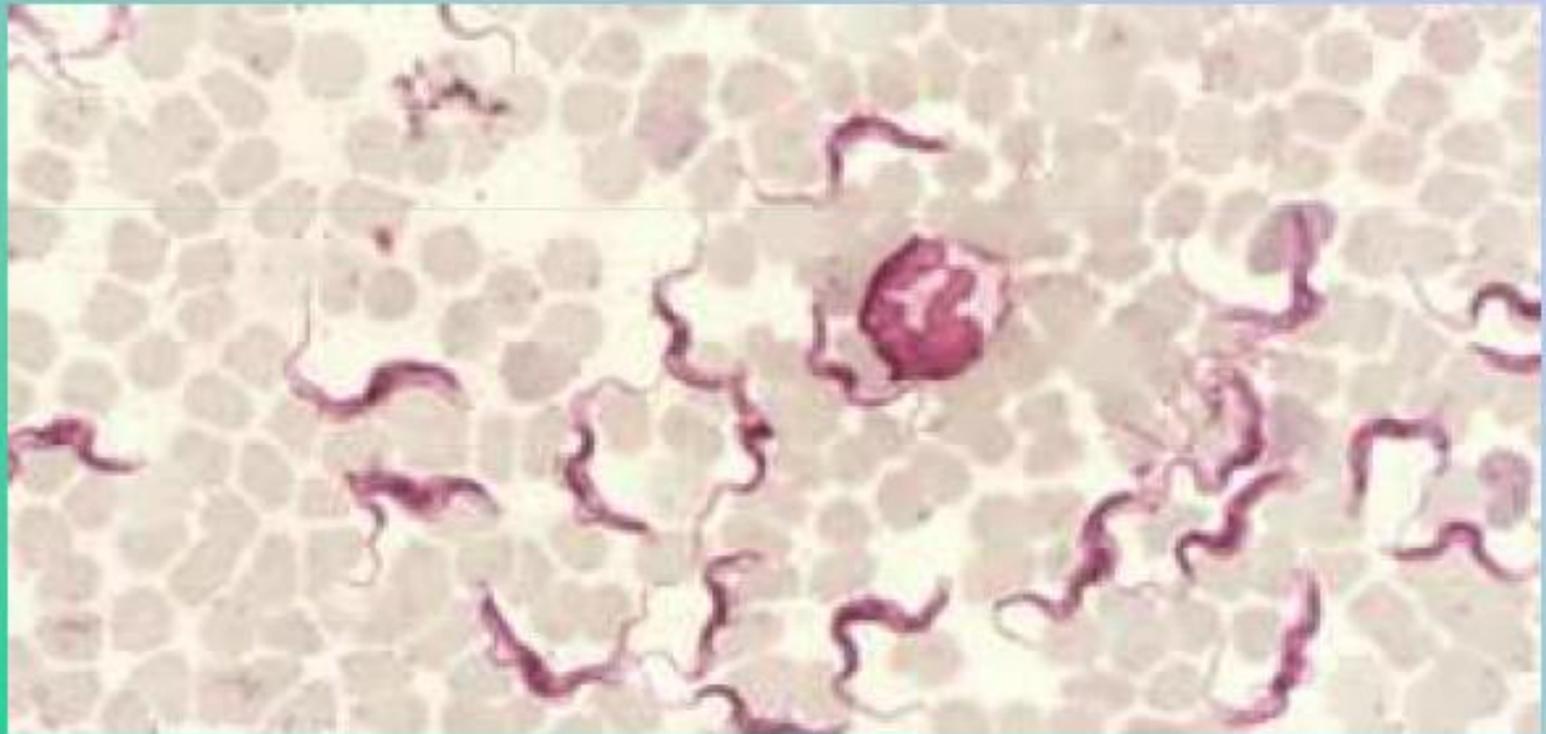
Hypochromie des hématies pouvant révéler
une **carence martiale**

vestiges de fuseau mitotique



Anneaux de cabot dans les hématies pouvant révéler une **dysérythropoïèse**

2) Exemples de parasitoses révélées par un frottis



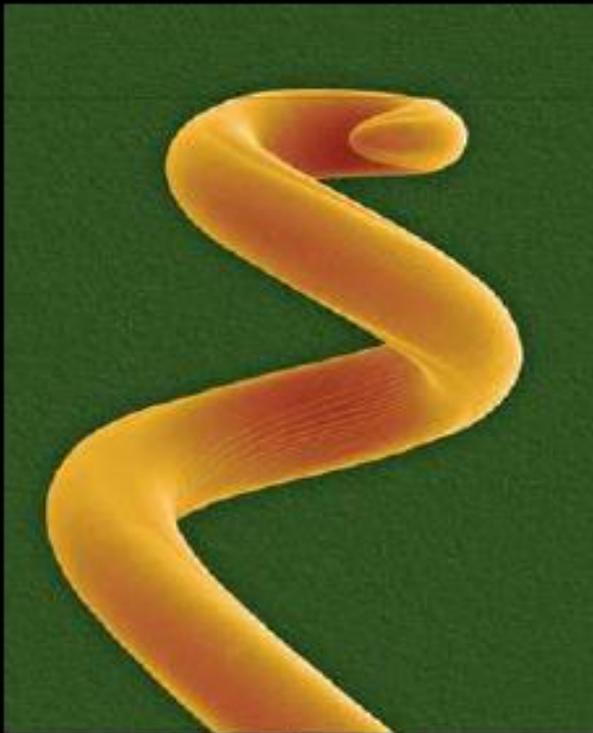


Nématodes



Protozoaires

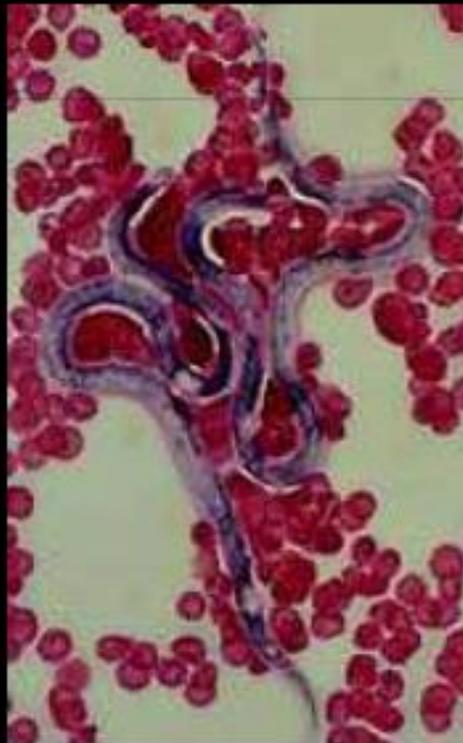
Les Micro filaires (Vers nématodes)



Parasites extra-érythrocytaires

Wuchereria bancrofti

Brugia malayi



Filariose lymphatique (éléphantiasis)

140 millions de personnes infectées dans le monde



Filariose de Bancroft



Filariose de Brugia

Transmission par piqûre de moustique

Diagnostic difficile car passage sanguin autour de minuit seulement des larves ou **microfilaires** (adultes dans les organes lymphatiques) ingérées par le moustique lors d'une piqûre. Ces larves se développent chez le moustique avant d'être de nouveau inoculées à l'homme par piqûre



Lymphoedèmes
(jambe, organes génitaux ext, bras...)

Loase



Maladie due à une filaire dermique (Loa-Loa) donnant naissance à des larves ou microfilaires sanguines.

Le cycle est le même que pour toutes les filaires : piqûre infestante d'insecte (ici un taon : chrysops), maturation des femelles dans le **tissu sous-cutané**, libération de microfilaires dans le sang, absorbées par un taon lors d'une nouvelle piqûre, maturation chez le taon.

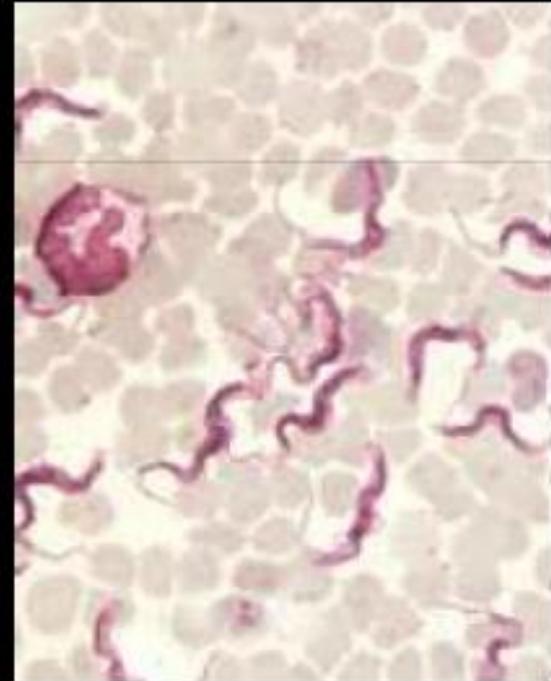


Les Protozoaires

Parasites



Intra-érythrocytaires



Extra-érythrocytaires

Plasmodium



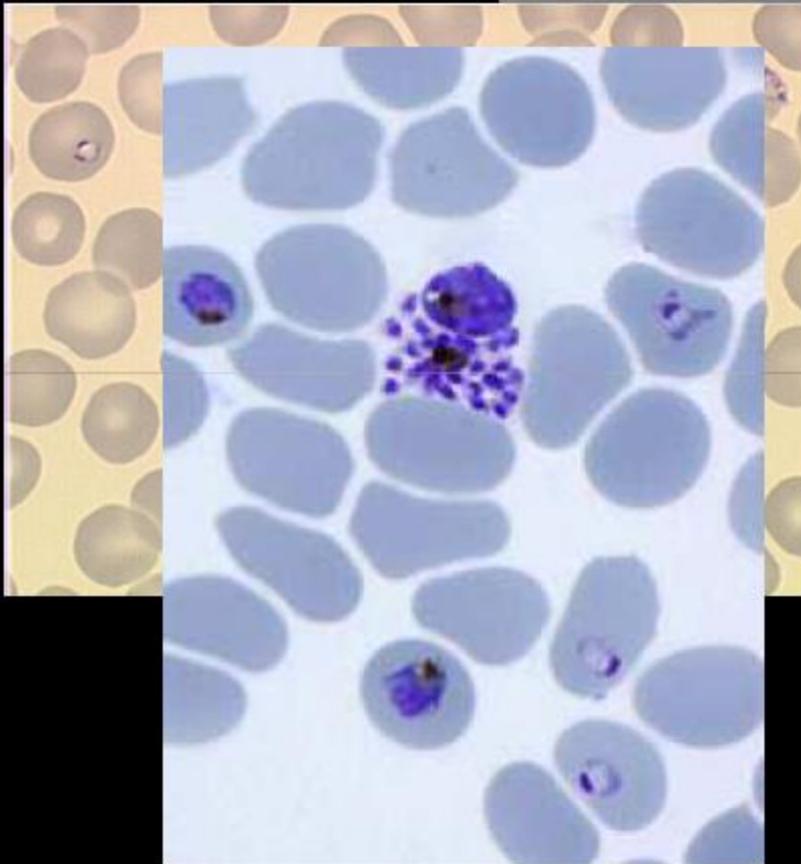
Paludisme (malaria)



plasmodium

5 espèces pathogènes pour
l'homme

Infecte les globules rouges
(multiplication
des mérozoïtes = asexuée)



Trypanosoma



Maladie du sommeil (trypanosomiase)



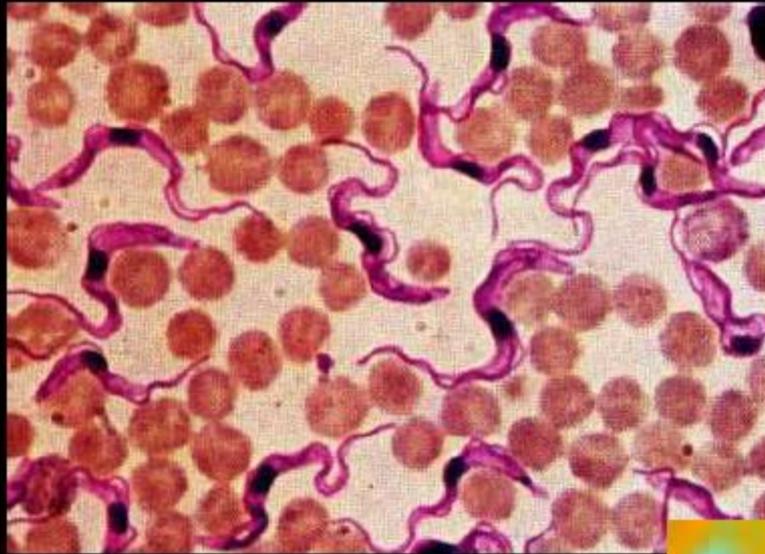
trypanosome



Mouche tsé tsé (glossina)

Trypanosoma

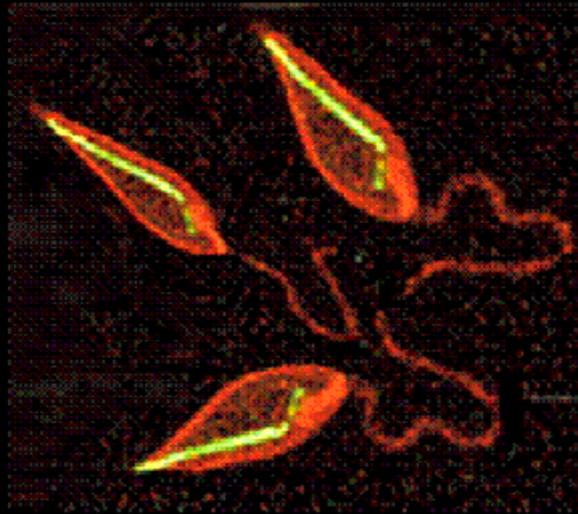




**60 millions de personnes
dans le monde (afrique)**

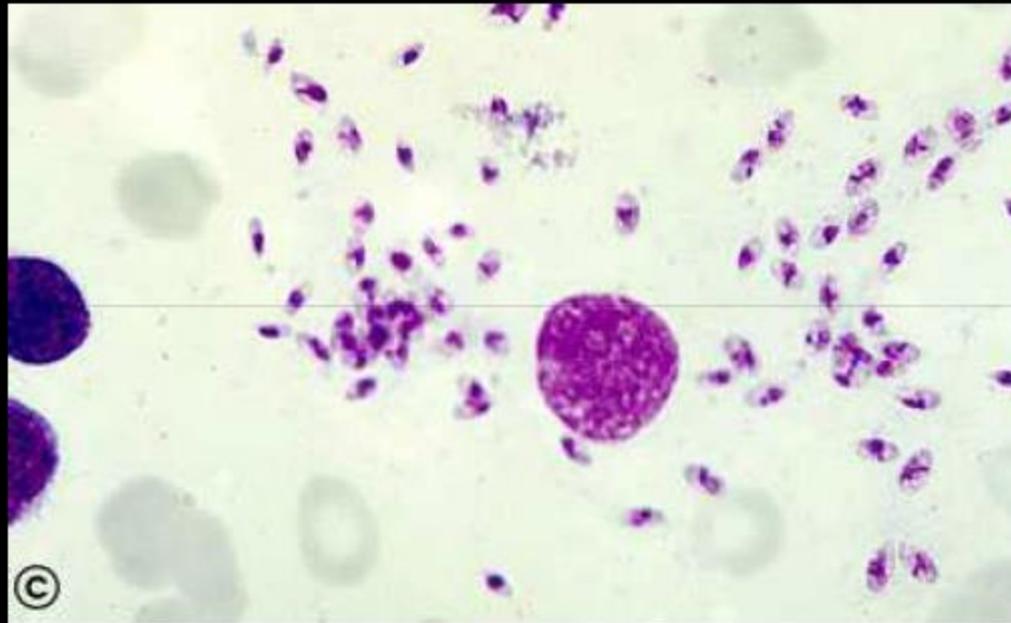
Mortelle si non traitée

Leishmania



(Trypanosome)

**Cas particulier
Leishmaniose**



Infecte les macrophages



Leishmaniose viscérale



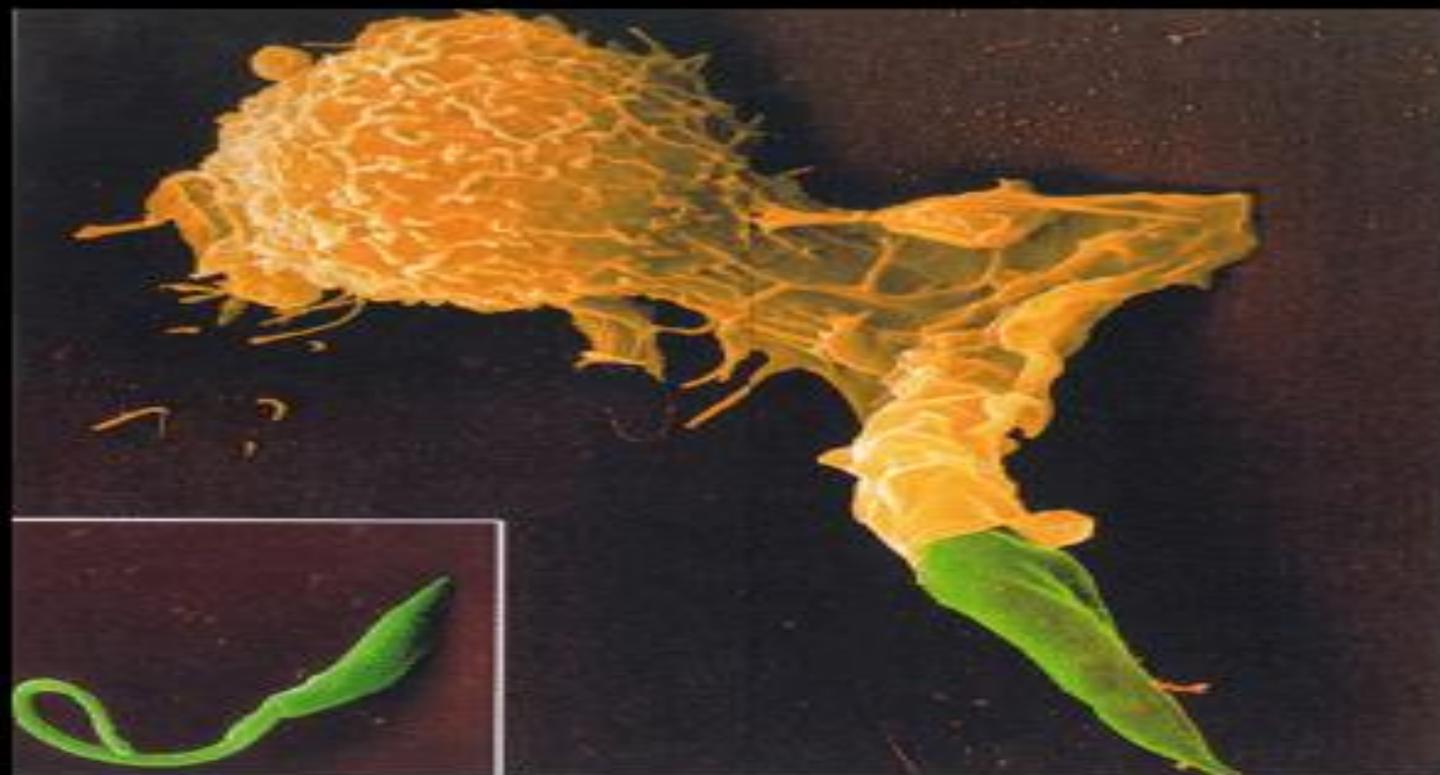
Leishmaniose muco-cutanée



Leishmaniose cutanée

**Sévit au Maroc
(Rif, Zagora...)**





3) Autres exemples de maladies révélées par un frottis

Anémie falciforme (thalassémie)



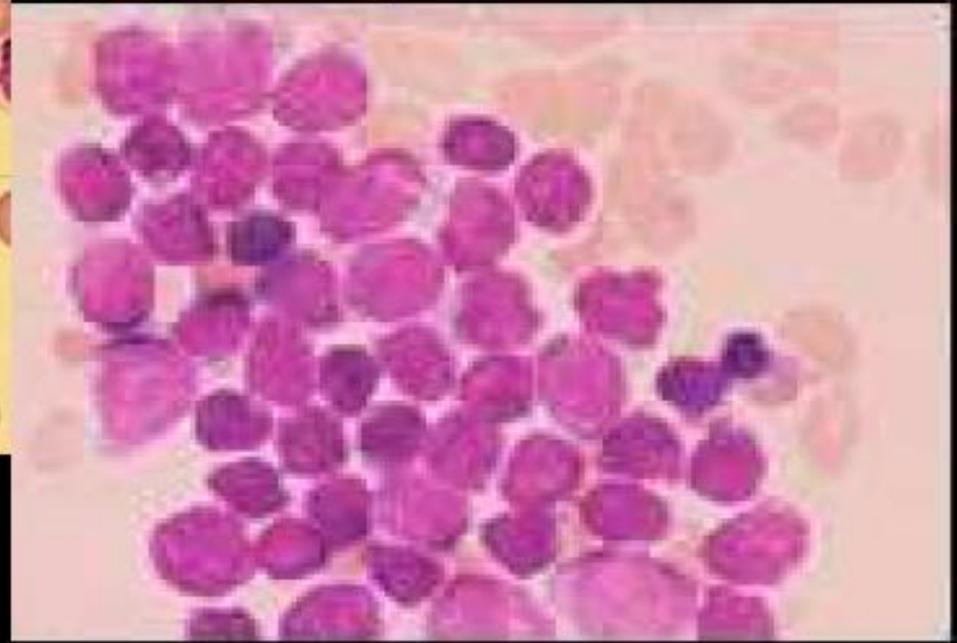
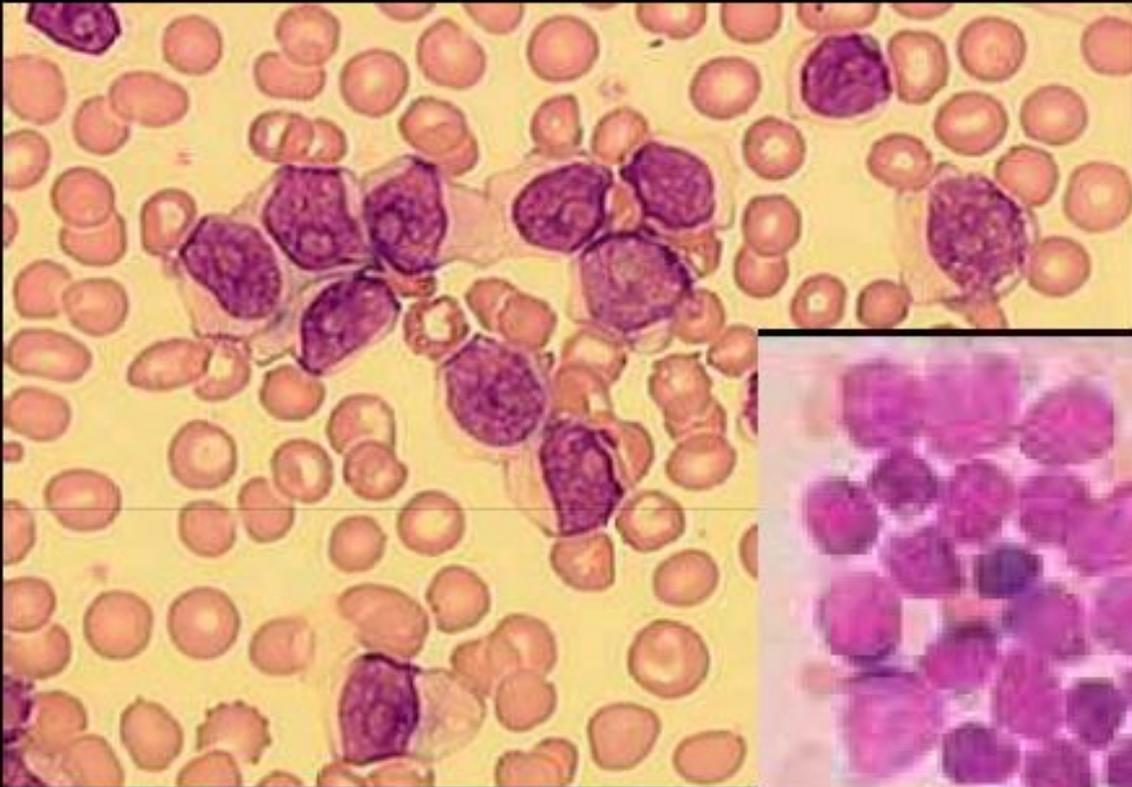
-La **drépanocytose** est une maladie héréditaire touchant principalement les sujets de race noire.

-Les manifestations cliniques sont la conséquence de la présence d'une hémoglobine anormale (**hémoglobinoses**) dans les **globules rouges** entraînant une modification de leur forme (**hématies falciformes** dont l'aspect est en forme de faux) et une moindre déformabilité.

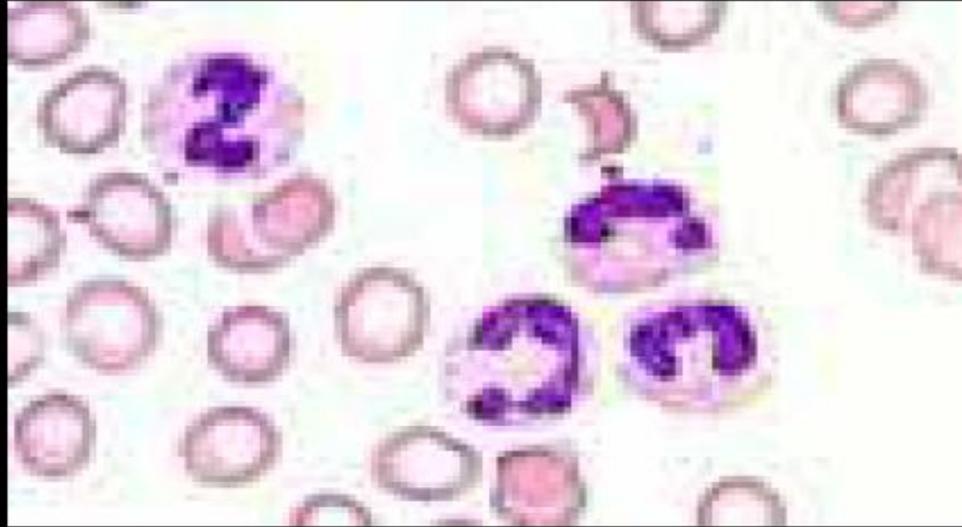
-Elle se manifeste par une anémie et des **douleurs**, de topographie variable, liées à l'obstruction des vaisseaux par ces globules rouges anormaux (**infarctus spléniques, colite ischémique, ostéonécrose, priapisme, complications foétales pendant la grossesse, complications rénales, oculaires, cardiaques...**).

-- Des poussées de la maladie, et notamment des **crises** douloureuses, peuvent être favorisées par le froid, le **stress**, les infections, certains **médicaments** vasoconstricteurs.

Cancers

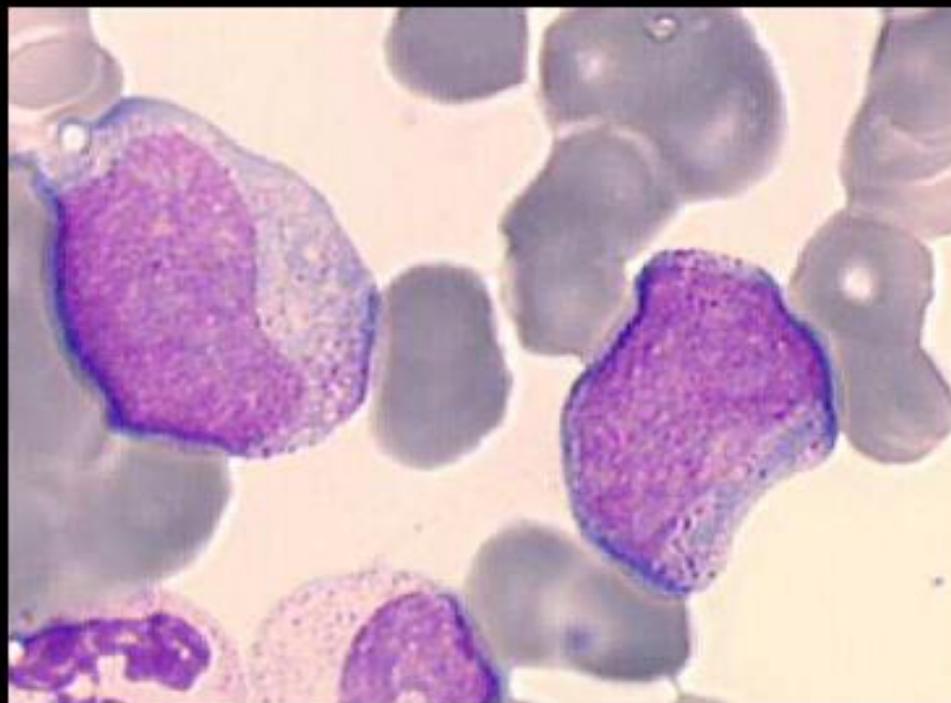


Lymphocytes trop nombreux dans le cas d'une **leucémie lymphoïde**



Neutrophilie dans le cas d'une leucémie myéloïde

La neutrophilie désigne une augmentation du taux de **polynucléaires** neutrophiles, globules blancs impliqués dans l'absorption et dans la **digestion** de **bactéries**. On parle de neutrophilie lorsque le nombre de ces globules est supérieur à 10 000 / μ l. Les causes occasionnant ce trouble sont multiples : **troubles métaboliques**, **nécrose** tissulaire, prise médicamenteuse, maladies **myéloprolifératives**, réactions post-transfusionnelles, neutrophilie **bénigne** chronique, **grossesse**, **stress**...



Présence de nombreuses cellules immatures dans
le sang (myéloblastes)
Leucémie

LES AUTRES ANALYSES



Vitesse de sédimentation

Définition : Temps nécessaire aux globules rouges pour sédimenter librement dans un tube en présence d'anticoagulant

Valeur : Exprimée par mesure de la hauteur de la colonne de cellules sédimentées dans le tube :

<7 mm en 1 heure

<20 mm en 2 heures

Variations : de façon générale cette vitesse augmente dans toutes les maladies infectieuses et inflammatoires (Quand il y a un processus inflammatoire, la haute teneur en fibrinogène et protéines inflammatoires du sang fait que les globules rouges se collent ensemble en rouleaux qui séimentent plus vite)

Utilité : Élément de diagnostic de nombreuses maladies : rhumatisme articulaire aigu, thrombose, anémie, hypercholestérolémie, parasitose...

Bilan de la coagulation

1) Numération plaquettes :

2) TCA ou temps de Céphaline Kaolin (voie intrinsèque)

Valeur normale : 30 à 39 secondes

Diminution : inflammation Augmentation : troubles de la coagulation

3) Taux de prothrombine ou Temps de Quick :

Valeur normale : 70 à 100 % et 25 à 30 % si traitement anti-coagulant

4) Temps de saignement ou Temps de Duke :

Valeur normale : 2 à 4 minutes

5) Taux de fibrinogène :

Valeur normale : 2 à 4 g

6) INR (International Normalised Ratio) :

Baisse du taux de prothrombine = augmentation de l'INR

Utilité : Bilan pré-opératoire ou surveillance de l'efficacité d'un traitement anti-coagulant

Taux de prothrombine et INR

| | Taux de prothrombine | INR |
|---------------------------------------|----------------------|---------|
| Individu sain | 70 - 100 % | 1 |
| Prévention des thromboses veineuses | 30 - 40 % | 2 - 3 |
| Prévention des thromboses artérielles | 20 - 30 % | 3 - 4.5 |
| Patient porteur de prothèse cardiaque | 20 - 30 % | 3 - 4.5 |

Utilité : Surveillance de l'efficacité d'un traitement anti-coagulant