



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Bilan d'activité dans une unité d'hématologie

Présenté par : BEN BEKKARI Ikram

Encadré par : Pr. KAOUAKIB El abida

Pr. BAHJI Mostafa

Soutenu le : 06/07/2021

Devant le jury composé de :

- **Pr KAOUAKIB El abida**
- **Pr SEFRIOUI Samira**
- **Pr BAHJI Mostafa**

Stage effectué à : laboratoire international à SIDI KACEM

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Je tiens tous d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui m'as inspiré et qui m'as guidé au bon chemin. Langages et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

Je tiens à remercier Pr. BAHJI Mostafa Médecin Biologiste au laboratoire international pour son soutien durant toute la période du stage.

C'est avec un grand plaisir que j'ai effectué ce travail sous sa direction.

Je tiens à remercier également Pr. KAOUAKIB El abida, de m'avoir si bien aidé à mener à bien ce travail, vous n'avez jamais lésiné ni sur votre temps ni sur votre savoir tout au long de ce travail.

Je tiens sincèrement à remercier le jury,

Je vous exprime Professeurs mes vifs remerciements et je vous témoigne ma reconnaissance et mon respect.

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce manuscrit : mes amis pour leurs conseils, mes proches pour leur soutien

Je vous remercie tous...





Dédicaces

A mes très chers parents

Ma mère et mon père,

Vous m'avez appris à balbutier mes premières paroles, à faire mes premiers pas, à sourire.... Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je vous porte.

Puisse Dieu vous prêter longue vie, avec bonne santé, afin que je puisse vous combler.

A mes très chers frères : Mohamed et Amine

Nous étions très proches et nous le serons pour toute la vie.

Vous êtes le rayon du soleil qui illumine ma vie et me réchauffe le cœur.

Que Dieu vous réalise tous vos rêves et satisfait vos ambitions.

A mes amis et mes camarades,

Au nom de l'amitié qui nous a lié, je vous dédie ce travail, veuillez croire à mes sincères remerciements et mes souhaits de succès et de bonheur.

SOMMAIRE

- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Liste des abréviations

Présentation de la structure d'accueil

Introduction..... 1

I- Rappels sur le sang

I-1 Définition2

I-2 Constituants du sang2

II- les différentes techniques d'analyse au laboratoire d'hématologie

II-1 Hématologie-cytologie

A – Hémogramme

I- Généralité.....5

1- Prélèvement sanguin.....5

2 – Appareil SYSMEX-XN 350.....6

II- Etude des différents paramètres de l'hémogramme.....8

B- Frottis sanguin

1- Principe12

2- Réalisation12

3- Lecture13

C- Vitesse de sédimentation.....15

II-2 Hémostase

1- Définition.....17

2- Prélèvement sanguin.....18

3- Appareil Start Max.....19

4- Tests explorant la coagulation.....19

4-1- Temps de céphaline activée.....19

4-2- Temps de prothrombine.....20

II-3 Immuno-hématologie

A. Groupage ABO-Rhésus

1- Groupe ABO.....22

2 – Groupe Rhésus24

B- Test coombs.....26

Conclusion.....30

Références Bibliographiques et Webographiques

Liste des figures

Figure 1 : Les composants du sang après centrifugation.....	2
Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse.....	4
Figure 3 : Appareil SYSMEX XN -350.....	6
Figure 4 : Exemple d'un hémogramme normal.....	8
Figure 5 : Les étapes de la réalisation d'un frottis sanguin.....	12
Figure 6 : Les différentes cellules d'un frottis sanguin normal.....	14
Figure 7 : Schéma explicatif du mode opératoire de VS.....	15
Figure 8 : L'appareil MINI-CUBE.....	16
Figure 9 : Les étapes d'activation de la coagulation.....	17
Figure 10 : les trois étapes d'hémostase.....	18
Figure 11 : L'automate Start Max.....	19
Figure 12 : Epreuve de Beth- vincent et Simonin.....	23
Figure 13 : La plaque du groupage sanguin.....	24
Figure 14 : Les réactifs de groupage ABO-Rhésus.....	25
Figure 15 : Cassette du groupage.....	25
Figure 16 : Les cassettes de test coombs.....	27
Figure 17 : Test direct et indirect à l'anti globuline.....	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Aspect et caractéristiques des différentes cellules sanguines
Tableau 2 : Réactifs utilisés pour l'appareil SYSMEX XN-350
Tableau 3 : Les différents antigènes et anticorps du système ABO

Liste des abréviations

EFS : Eléments Figurés du Sang

GB : Globule Blanc

GR : Globule Rouge

PNN : Polynucléaire Neutrophile

PNE : Polynucléaire Eosinophile

PNB : Polynucléaire Basophile

MO : Moelle Osseuse

Hb : Hémoglobine

Ht : Hématocrite

VGM : Volume Globulaire Moyen

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

VPM : Volume Plaquettaire Moyen

NFS : Numération Formule Sanguine

MGG : May Grunwald Giemsa

VS : Vitesse de Sédimentation

INR : International Normalized Ratio

ISI : Indice de Sensibilité International

TP : Taux de Prothrombine

TCA : Temps de Cépaline Activée

AC : Anticorps

Ag : Antigène

Rh : Système Rhésus

TCD: Test Coombs Direct

TCI: Test Coombs Indirect

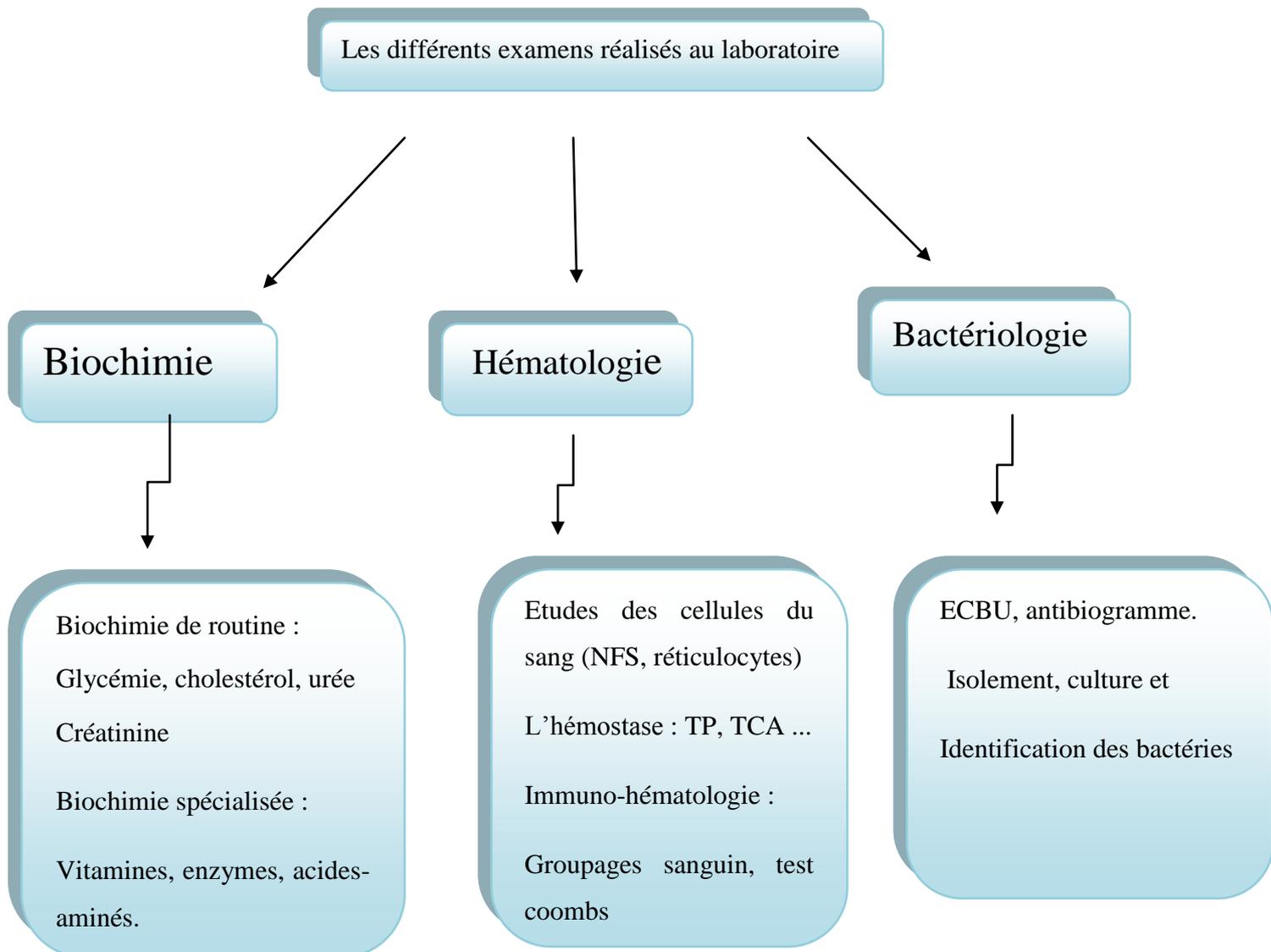
RAI : Recherche d'Agglutinines Irréguliers

Présentation de la structure d'accueil

Le laboratoire international d'Analyses Biologiques et Médicales, est un établissement privé localisé dans la ville de SIDI KACEM, sur une superficie de plus de 280 m².

Le laboratoire est constitué d'une salle d'attente, un grand comptoir d'accueil, 2 toilettes séparées pour les patients et 2 toilettes séparées pour le personnel, 3 salles de prélèvement dont une salle est dédiée aux bébés et aux prélèvements spéciaux (urétraux, mycologie, sperme...) et 3 salles techniques séparées, un bureau de Médecin Biologiste, un bureau de secrétariat, un dépôt, une salle d'archivage et une laverie.

Le laboratoire réalise une gamme importante d'examens biologiques



Introduction générale

Depuis toujours, l'Homme a eu la curiosité de connaître son état de santé et l'origine de ses maux en faisant l'étude sur les liquides et les sécrétions de l'organisme.

Actuellement, les analyses médicales sont des outils incontournables qui concourent au diagnostic, au suivi et à la prévention des pathologies humaines.

Il existe tant des analyses médicales, on peut citer à titre d'exemple : les analyses hématologiques, bactériologiques, sérologiques....

Dans ce travail, nous allons nous intéresser particulièrement aux analyses hématologiques, qui s'intéressent à l'étude du sang et des pathologies associés (hémopathies) tels que les anémies, les cancers (leucémies et lymphomes), les hémophilies et les problèmes de coagulation.

Concernant les tests les plus utilisés pour le diagnostic ou le suivi des problèmes hématologiques, on cite l'hémogramme, c'est l'examen de base en hématologie cellulaire.

Les tests explorant les problèmes d'hémostase servent essentiellement à l'identification des sujets à risque de thrombose ou d'hémorragie.

La vitesse de sédimentation, c'est un examen important pour la détection d'une inflammation ou d'une infection tels que la tuberculose ou l'infection urinaire.

Le groupage sanguin, joue un rôle primordial dans le cadre d'une transfusion sanguine.

Les tests de coombs direct et indirect, sont indispensables pour mettre en évidence une anémie dite hémolytique ou pour la sécurité immunologique des transfusions.

Objectif du travail

Ce stage effectué au Laboratoire International, a pour but de me familiariser avec les méthodes et les techniques d'analyses réalisées en hématologie pour le diagnostic et le suivi de certaines pathologies, et de Connaître l'intérêt clinique des paramètres mesurés.

I- Rappels sur le sang

I-1 Définition

Le sang est un tissu liquide qui circule dans les vaisseaux et irrigue les organes [1]. Il joue des rôles indispensables dans l'organisme tels que le transport d'oxygène et des nutriments, l'élimination des déchets ou encore la défense contre les agents pathogènes tels que les bactéries et les virus....

Un adulte moyen est doté d'environ 5 litres de sang soit 8% de sa masse corporelle.

I-2 les constituants du sang

Le sang à l'œil nu, fraîchement prélevé apparaît totalement liquide. Il est en fait constitué de deux composantes majeures [2], une partie liquide appelée plasma qui occupe 55% du volume total du sang (VT), elle se présente sous forme d'un liquide jaunâtre composé essentiellement d'eau (90 %), protéines, anticorps, hormones, vitamines, et des sels minéraux.

La deuxième composante est un culot cellulaire constitué par les cellules sanguines, sont appelées Eléments Figurés du Sang (EFS) en suspension dans le plasma [1]. Ils représentent 45% du VT.

Nous pouvons distinguer, des cellules anucléées qui sont les globules rouges (GR) appelés aussi hématies ou érythrocytes (cellules les plus abondantes des EFS) et les plaquettes (PLT) appelées également thrombocytes, et des cellules nucléées qui sont les globules blancs appelées également leucocytes, impliquées dans la défense immunitaire [3]. Ces derniers représentent une population hétérogène formée par cinq catégories cellulaires à savoir les polynucléaires neutrophiles (PNN), les polynucléaires éosinophiles (PNE), les polynucléaires basophiles (PNB), les lymphocytes et les monocytes (figure 1).

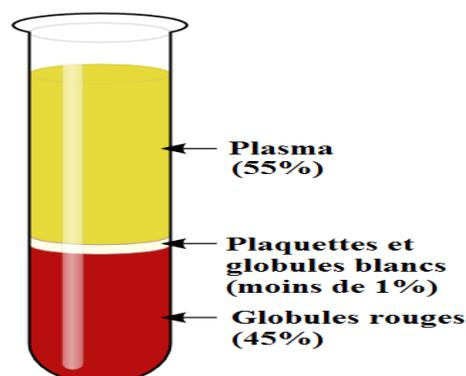
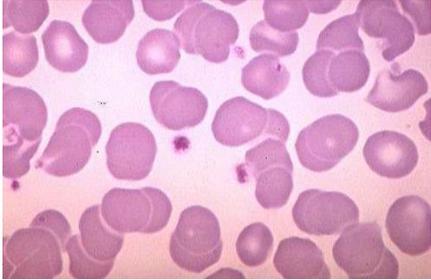
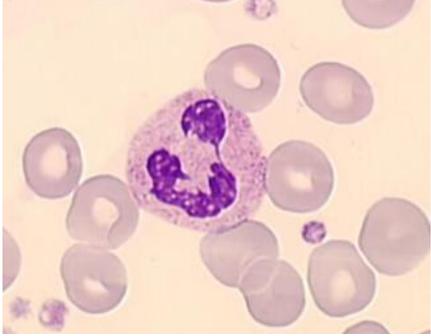
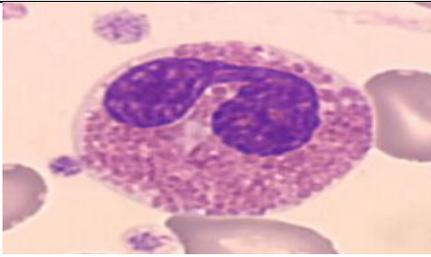
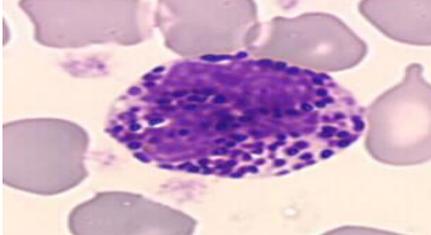
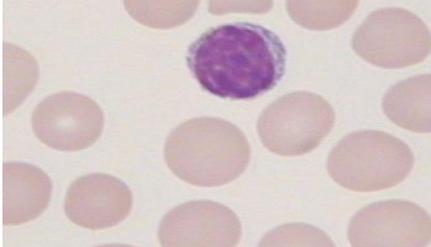
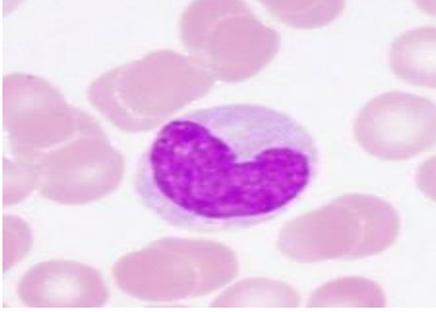
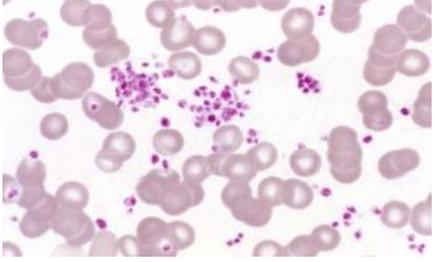


Figure 1 : les composants du sang après centrifugation [2]

Chaque type d'EFS a une fonction propre et des caractéristiques morphologiques différentes [1] (tableau 1).

Tableau 1 : Aspect et caractéristiques des différentes cellules sanguines

Type	Aspect	Caractéristiques
Les globules rouges		Cellules dépourvus de noyau, de taille uniforme avec un diamètre moyen de 8µm, dont le cytoplasme est riche en hémoglobine et dépourvus d'organites. Ces cellules assurent le transport des gaz respiratoires O ₂ et CO ₂ .
Les polynucléaires neutrophiles		Cellules arrondies de 12 à 15µm de diamètre. Le noyau est polylobés et le cytoplasme légèrement acidophiles, renferment des granulations très fines. Ils sont Responsables de la défense contre les infections bactériennes et autres processus inflammatoires.
Les polynucléaires éosinophiles		Elles traitent en premier lieu les infections parasitaires, peuvent augmenter au moment des réactions allergiques. Ils ont un noyau bilobé avec des granulations plus grosses et de teinte orangée.
Les polynucléaires basophiles		Responsables des réponses allergiques et inflammatoires en libérant de l'histamine. Ils sont caractérisés par des grosses granulations violettes.
Les lymphocytes		Deuxième cellules la plus importante après les neutrophiles son augmentation est le plus souvent signe d'une infection en particulier virale. Le noyau occupe la quasi-totalité de la cellule et se caractérisent par un cytoplasme réduit.

Les monocytes		.Ce sont les cellules les plus volumineux du sang, dont la fonction principale est la phagocytose. (les monocytes se transforment en macrophages dans les tissus). Possèdent un noyau encoché, un cytoplasme gris-bleu et contient des granulations.
Les plaquettes		Cellules anucléées en forme de disque, interviennent dans la coagulation du sang, et l'arrêt des hémorragies.

Les EFS jouent des rôles primordiaux pour l'organisme, ils permettent le maintien de l'intégrité de l'organisme à savoir l'oxygénation, la défense contre les agents pathogènes et la prévention du risque hémorragique.

Les cellules sanguines sont fabriquées et renouvelées au cours d'un processus d'hématopoïèse qui se déroule dans la moelle osseuse (MO) (figure 2).

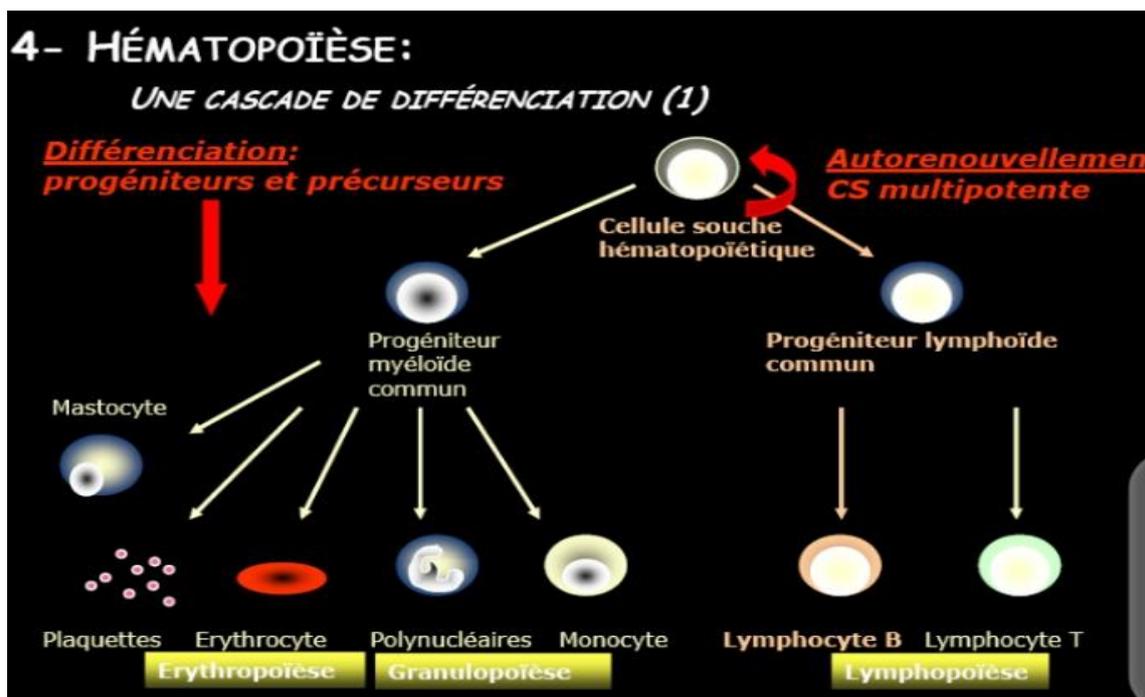


Figure 2 : Schéma de l'hématopoïèse

II- les différentes techniques d'analyse au laboratoire d'hématologie

II-1 hématologie-cytologie

A-Hémogramme

I. Généralité

L'hémogramme appelé également la Numération Formule Sanguine (NFS), généralement automatisé. C'est le premier examen biologique prescrit pour dépister, explorer et suivre des hémopathies tant bénignes que malignes [4], il correspond à l'étude quantitative et qualitative des cellules du sang.

L'hémogramme constitue l'expression des résultats de :

- l'énumération cellulaire sanguine ; GR, GB et PLT, accompagnée des paramètres permettant de caractériser la population érythrocytaire à savoir l'**hématocrite (Ht)**, le **taux d'hémoglobine (Hb)**, le **Volume Globulaire Moyen (VGM)**, la **Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH)** et la **Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH)**. L'hémogramme permet également de déterminer la formule leucocytaire, qui exprime le pourcentage relatif (et le nombre absolu) des différentes sous-populations leucocytaires.

Une interprétation correcte de l'hémogramme permet d'orienter vers des pistes diagnostiques et vers la prescription rationnelle d'examen complémentaires. Ces données doivent être bien entendues et intégrés au données de l'interrogatoire et avec l'examen clinique ainsi qu'avec les résultats biologiques.

1) Prélèvement sanguin

Le prélèvement se fait d'une manière rigoureuse, il est toujours accompagné d'une fiche de renseignement. Le prélèvement est effectué sur du sang veineux (veine de pli de coude), mais peut aussi être réalisé au niveau du bout du doigt, du lobe de l'oreille ou du talon en particulier chez les nourrissons. Ensuite le sang prélevé est recueilli dans un tube EDTA, un chélateur du calcium qui bloque la coagulation et n'interfère pas les mesures effectuées. [5]

L'examen doit être réalisé rapidement (<2 heures) après le prélèvement.

2) Appareil SYSMEX-XN 350

L'automate SYSMEX XN-350 permet d'effectuer la numération automatique globulaires (GB, GR) et plaquettaire et le calcul des constantes ou des indices hématimétriques (VGM, CCMH, TCMH) (figure 3).



Figure 3 : l'appareil SYSMEX XN-350

❖ Principe du SYSMEX XN-350

L'analyseur SYSMEX XN-350 s'appuie sur les principes de cytométrie de flux et de fluorescence des acides ribonucléiques cellulaires pour la détermination de la formule

sanguine. Après lyse des GR, les cellules marquées sont injectées devant le faisceau laser où elles sont analysées selon leur volume, leur structure et leur fluorescence. Cette analyse permet non seulement de séparer les cinq populations des GB mais aussi elle permet de détecter les cellules granuleuses immatures tels que les myélocytes et les métamyélocytes

❖ Réactifs utilisés

Tableau 2 : Réactifs utilisés par l'appareil SYSMEX XN-350

Réactif	Rôle
SLS SULFLYSER	Réactif sans cyanure destiné à la détermination de l'hémoglobine, il lyse les érythrocytes et agit sur la globine pour formé un complexe coloré stable.
CELLPACK	Diluant sert à nettoyer l'aiguille après l'aspiration d'un échantillon.
CELLCLEAN cl 50	Un détergeant alcalin puissant destiné à supprimer les réactifs lytiques des résidus cellulaires, et les protéines sanguines restées dans les systèmes de conduits des analyseurs d'hématologie SYSMEX.
FLLUOROCELL WDF	Permet de colorer les leucocytes des échantillons lysés, il permet la détermination de la formule leucocytaire de cinq population (PNN, PNE, PNB, monocytes et lymphocytes).
LYSERCELL WDF	Réactif lysogène

❖ Exemple d'un hémogramme

Hématologie		Valeurs de référence	Antériorités
✓ Hémogramme Automate Pentra 120 (HORIBA)			
			31/08/10
Hématies	4 720 000 /mm ³	3 800 000 à 5 200 000	4 240 000
Hémoglobine	14,3 g/100mL	12,0 à 16,0	13,0
Hématocrite	44,9 %	37,0 à 47,0	40,0
V.G.M.	95 µ ³	85 à 95	94
T.C.M.H.	30,3 picog	27,0 à 32,0	30,7
C.C.M.H.	32 g/100mL	32,0 à 35,0	32
Leucocytes	5 600 /mm ³	4 000 à 10 000	6 500
Polynucléaires neutrophiles	63,0 %		
Polynucléaires éosinophiles	3,2 %		
Polynucléaires basophiles	0,9 %		
Lymphocytes	30,0 %		
Monocytes	2,9 %		
			31/08/10
Plaquettes	273 000 /mm ³	150 000 à 450 000	300 000
V.P.M.	7,7 µ ³	Inf. à 10,0	7,7

Figure 4 : Exemple d'un hémogramme normal [Femme]

Les valeurs physiologiques des paramètres mesurés par l' NFS sont variables en fonction de l'âge (nouveau-né, enfant, adulte), du sexe et de l'origine ethnique [6]. Chez l'adulte, en absence de pathologie, il n'y a pas de modifications physiologiques de l'hémogramme avec le vieillissement.

II- Etude des différents paramètres de l'hémogramme

1/ Numération globulaire

- GR :
 - Homme 4,5 à 5,8 .10⁶/ mm³
 - Femme 3,9 à 5,4. 10⁶/ mm³

On peut constater une augmentation du nombre des GR au cours des polyglobulies, des hémococoncentrations (déshydratation, diurétiques). En revanche une diminution de ces cellules est observée dans la majorité des anémies [1], des hémorragies ou lors des hémolyses.

- **GB :** pour les polynucléaires :

- PNN 1500 à 7500 /mm³
- PNE 80 à 400 / mm³
- PNB 0 à 100 / mm³

Pour les mononuclés :

- Les monocytes 100 à 700 / mm³
- les lymphocytes 1500 à 4000 / mm³

On peut constater une augmentation du nombre des GB ou hyperleucocytose au cours des infections, des inflammations, des leucémies et même lors des syndromes myéloprolifératifs. Par ailleurs une diminution de ces cellules (neutropénie et parfois lymphopénie) peut être constatée au cours des insuffisances ou d'aplasie médullaire [1].

- **PLT :** - 150 000 à 400000 / mm³

Une thrombocytose peut être observée après une splénectomie ou lors des syndromes myéloprolifératifs chroniques, tandis qu'une thrombopénie peut être constatée au cours d'une insuffisance de production de la MO ou au cours d'une destruction excessive des thrombocytes (anticorps antiplaquettaire) [1].

2) le taux d'hémoglobine

L'hémoglobine (Hb) est une protéine riche en fer, dont la fonction principale est le transport d'oxygène à tous les tissus de l'organisme.

- Adulte :
 - Homme 13 à 16 g/100 ml
 - Femme 11,75 à 15 g/100 ml
- Nouveau né : - 13,5 à 19 g/100 ml
- Enfant - 12 à 14 g/100 ml

- On peut constater une augmentation de taux d'Hb au cours de polyglobulie, d'hypoxie. En revanche toute diminution du taux d'hémoglobine total est définie par une anémie.

3) L'hématocrite

L'hématocrite (Ht) correspond au volume occupé par les hématies par rapport au volume sanguin total. Elle s'exprime en pourcentage (%).

- Adulte : - Homme 40 à 54 %
- Femme 37 à 47 %
- Nouveau- né : 44 à 64 %
- Enfant : 36 à 44 %

- L'augmentation de l'hématocrite est observée au cours des polyglobulies, des déshydratations. Par ailleurs, une diminution est observée au cours des hémodilutions.

4) les constantes érythrocytaires

Les constantes érythrocytaires sont classées en deux catégories :

Les valeurs physiologiques qui sont le taux de GR, Ht et Hb, et les constantes érythrocytaires à savoir VGM, TCMH et CCMH.

a/ VGM : il représente le volume moyen d'un globule rouge.

$$\text{VGM } (\mu\text{m}^3) = \text{Hématocrite } (\%) / \text{Nombre d'hématies } (10^{12}/\text{l})$$

Chez l'adulte le VGM normale varie entre 85 à 95 μm^3 .

Selon la valeur de VGM on peut classer les anémies en :

- VGM = 85 à 95 μm^3 : normocytose
- VGM < 80 μm^3 : microcytose
- VGM > 100 μm^3 : macrocytose

b/ TCMH : c'est la quantité moyenne en Hb dans un GR.

$$\text{TCMH } (\text{pg}) = \text{Hémoglobine g/dl} \times 10 / \text{nombre d'hématies } (10^{12}/\text{l})$$

Le TCMH chez l'adulte varie entre 26 à 34 pg. Ce paramètre est considéré comme l'un des meilleurs indices d'un déficit de synthèse de l'hémoglobine.

Le TCMH < à 26 pg traduit un état d'hypochromie.

c/ CCMH : correspond à la concentration moyenne en Hb dans un GR. C'est aussi le poids en gramme d'hémoglobine contenu dans 100 ml d'hématies.

$$\text{CCMH (\%)} = \text{Hémoglobine g/dl} \times 100 / \text{Hématocrite \%}$$

La valeur normale du CCMH varie entre 32 et 34 %.

La valeur de CCMH permet de conclure à :

- CCMH = 32 à 34 % : normochromie
- CCMH < 30 % : hypochromie

La CCMH ne peut pas dépasser 34 %, donc il n'ya pas d'hyperchromie, car ce pourcentage correspond à une saturation du globule rouge en hémoglobine.

5) La numération des réticulocytes

Ce paramètre ne fait pas partie de l'hémogramme il doit faire l'objet d'une demande spécifique.

Le taux de réticulocyte reflète le taux de production médullaire au cours de l'érythropoïèse et donc le renouvellement érythrocytaire.

Le réticulocyte possède des ribosomes et des mitochondries, mis en évidence et dénombrés sur des frottis après une coloration au bleu de crésyl brillant. Un réseau de grains bleu violet à l'intérieur de la cellule permet de les différencier des hématies. [7]

Le taux de réticulocyte définit le caractère régénératif ou arégénératif de l'anémie quand il est respectivement supérieur ou inférieur à 120 000/mm³.

B- Frottis sanguin

1- Principe

Le frottis sanguin a pour but d'observer et de dénombrer les cellules sanguines d'une goutte de sang étalée sur une lame de verre d'un microscope et colorée par le May Grunwald Giemsa (MGG). Cette technique permet de faire une étude morphologique des cellules du sang, de repérer les anomalies cellulaires et la présence de certains parasites dans le sang.

2- Réalisation

2.1- confection de frottis sanguin

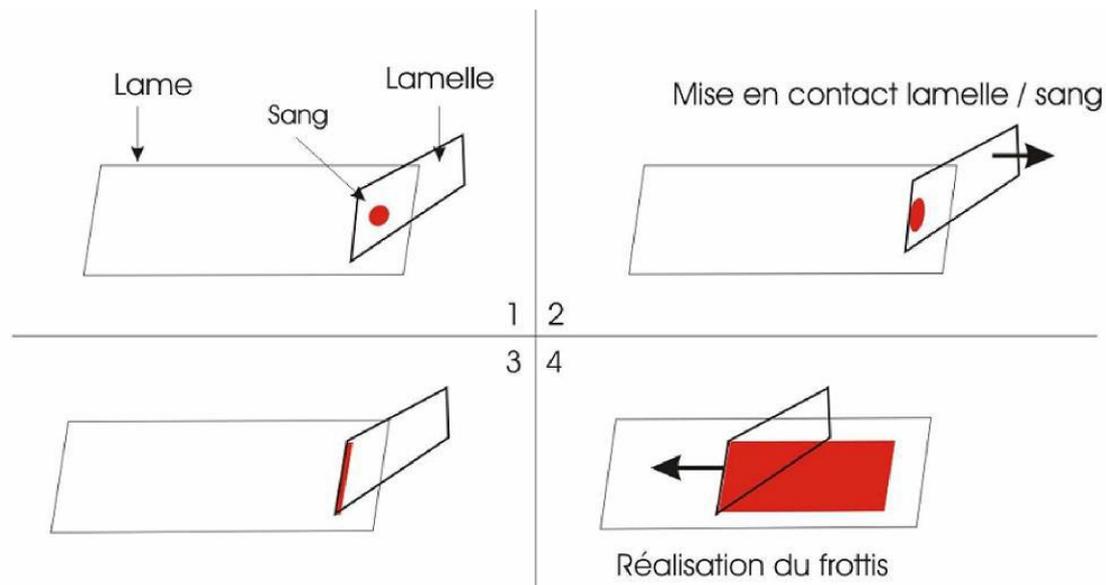


Figure 5 : les différentes étapes de réalisation d'un frottis sanguin [8]

On dépose une goutte de sang sur une lame dégraissée, puis on place la lame rodée contre la goutte du sang, par un mouvement régulier nous faisant glisser la lame rodée vers l'extrémité de la lame dégraissée.

Après la préparation du frottis sanguin, il faut vérifier que l'étalement est bien fait [9] :

- Il ne doit être ni trop mince, ni trop épais.
- Il ne doit pas présenter des stries verticales ou horizontales
- Il doit être étalé uniformément

2.2- coloration au MGG

C'est la coloration de routine utilisée en hématologie pour étudier les frottis sanguins ou médullaires.

❖ Composition [10]

Le colorant de May-Grunwald est une solution neutre d'éosine et de bleu de méthylène, ce qui permet la fixation des éléments. Après l'ajout de ce colorant, les noyaux sont colorés en bleu pâle, les cytoplasmes en bleu très clair ou sont incolores, les granulations secondaires des granulocytes en rouge clair pour la lignée neutrophile, en bleu foncée pour la lignée basophile et en rouge orangé pour la lignée éosinophile. Les hématies sont colorées en beige rose.

Le colorant Giemsa est une combinaison d'éosine et de dérivés du bleu de méthylène dont l'azur. Il colore les noyaux en violet, les cytoplasmes en bleu plus au moins intense ou en rose selon les cellules et les granulations primaires des granulocytes en rouge-pourpre intense (granulations dites alors azurophiles).

3- lecture

La lecture se fait au faible grossissement (objectif x 10) afin de pouvoir déterminer la répartition des cellules, la qualité de frottis et de la coloration. Si la répartition apparaît satisfaisante, on dépose une petite goutte d'huile à immersion sur la queue de l'étalement, puis on met on place l'objectif x 100.

La répartition des cellules n'est pas parfaitement égale, les cellules les plus petites tels que les lymphocytes se regroupent au centre du frottis, les plus volumineuses tels que les polynucléaires et les monocytes, sont entraînés dans les franges et la queue. Les hématies observées dans la zone d'épaisseur idéale, doivent être étalées en couche monocellulaire, leurs contours doivent être réguliers et leur coloration rose (figure 6).

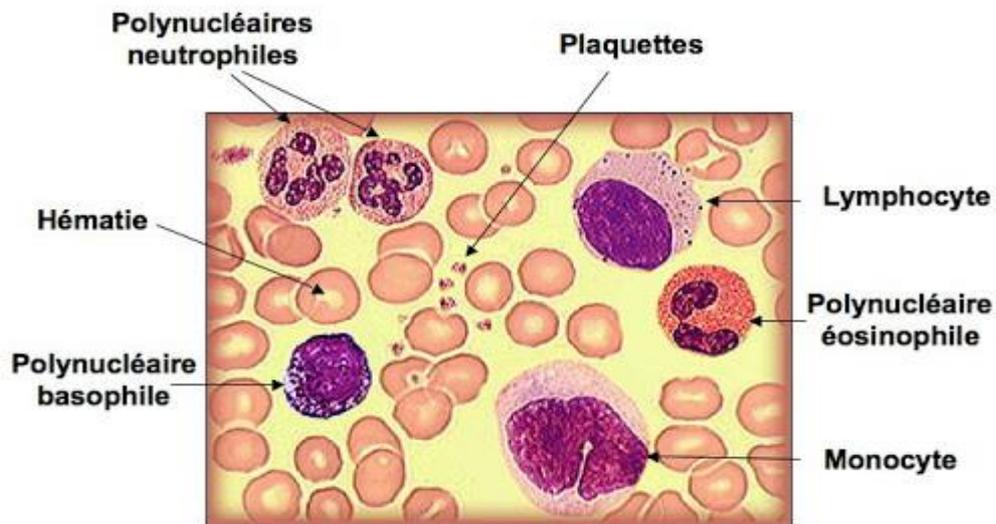


Figure 6 : les différentes cellules d'un frottis sanguin normal [11]

L'examen microscopique du frottis sanguin permet d'étudier la morphologie des différentes cellules sanguines.

Les GR sont dépourvus de noyau. Vue au microscope ressemblent à des disques rose plus pâle au centre.

Contrairement au GR les GB sont des cellules nucléées ce qui permet de les identifier facilement selon la forme du noyau et le type des granulations.

Les PLT, sont des disquettes de petites tailles, après la coloration de Giemsa elles prennent une couleur pourpre plus intense que les hématies.

- le frottis sanguin peut nous montrer des anomalies morphologiques qui peuvent toucher les trois catégories des cellules sanguines. A l'état normal les GR sont homogènes. Toute variation signifie une anomalie [1], on peut observer des GR de taille variable (anisocytose), de forme variable (poikyllocytose) ou de couleur variable (anisochromie). le frottis peut révéler également des polynucléaires (surtout les PNN) dé granulés, hyper ou hypo segmentés, comme il peut mettre en évidence des plaquettes anormales (géantes ou vides).

C- Vitesse de sédimentation (VS)

1- Principe

Par définition la vitesse de sédimentation est la vitesse à laquelle les globules rouges chutent dans un tube de Westrgreen placé à la verticale [12]. La VS dépend du nombre des GR, la viscosité du plasma liée en particulier à l'augmentation du taux des protéines de l'inflammation tels que le fibrinogène et l'haptoglobine, ou les immunoglobulines (favorisent l'agrégation des GR)

2- Prélèvement sanguin

Le sang prélevé est placé dans un tube citraté, à bouchon noir. Une homogénéisation par retournements est demandée afin d'éviter la formation de caillot.

3-Réalisation de la VS

La VS peut être mesurée de 2 méthodes ; méthode manuelle et méthode automatisée

3-1 Méthode manuelle

Le sang prélevé est aspiré dans le tube de Westrgreen jusqu'à repère zéro afin d'éviter toute formation de bulle d'air, juste après, on place le tube bien verticale sur son support, puis on observe la sédimentation. La lecture se fait au bout d'une heure (1 h) ou même de 2 heures (n'a aucun intérêt) (figure 7)



Figure 7 : Schéma explicatif du mode opératoire de VS

3-2 Méthode automatisée

Le MIN-CUBE est un instrument automatique conçu pour mesurer la VS des GR, les résultats seront affichés au bout de 20 minutes (figure 8).



Figure 8 : L'appareil MINI-CUBE

4- Interprétations

La VS après 1 heure est normalement inférieur à 10 mm chez l'homme et à 20 chez la femme. Chez les sujets de plus de 50 ans, les valeurs normales peuvent atteindre 20 et 30 mm respectivement chez l'homme et la femme, et peut même atteindre 40 à 50 mm chez les personnes âgées.

❖ Variations physiopathologiques

L'élévation de la VS a été reconnue longtemps comme un signe de l'inflammation, comme elle peut augmenter également au cours des infections, des maladies rhumatismales, ou lors des anémies hémolytiques.... En revanche une diminution est observée au cours des polyglobulies ou lors des hyperviscosités.

II -2 HEMOSTASE

1- Définition

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes mis en jeu pour colmater une brèche vasculaire afin d'arrêter des hémorragies en cas de blessure, de choc thermique ou d'intervention chirurgicale (Figure 9). Elle regroupe l'hémostase primaire, l'hémostase secondaire et la fibrinolyse.

Hémostase primaire ; elle dure 3 à 5 min et correspond à la première étape de l'hémostase aboutissant à la formation d'un caillot ou d'un clou plaquettaire.

Hémostase secondaire ; appelée également la coagulation, elle dure de 5 à 10 min, c'est la transformation du clou plaquettaire en un véritable caillot de fibrine : caillot fibrino - plaquettaire insoluble (figure 9).

On peut schématiquement diviser la cascade de réactions de la coagulation en 3 étapes.

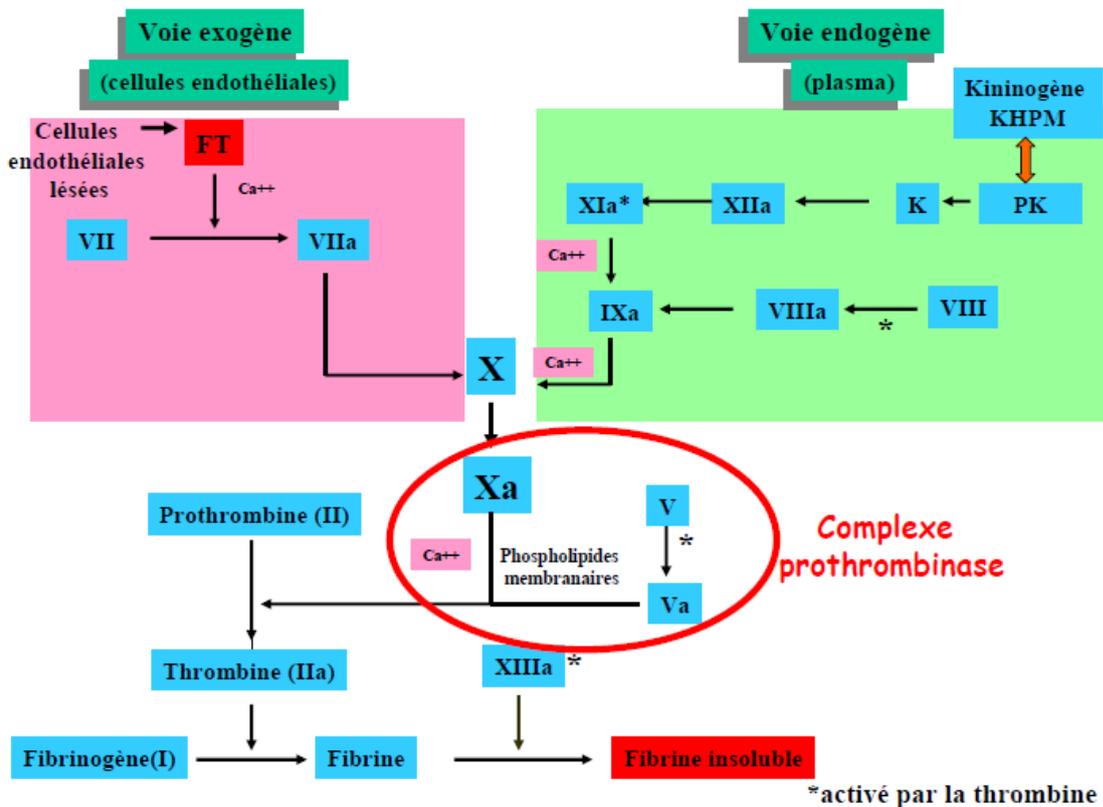


Figure 9 : Les étapes d'activation de la coagulation [13]

- **La génération de la prothrombinase** par l'aboutissement de 2 voies différentes de la coagulation appelées extrinsèque et intrinsèque.
- **La formation de thrombine** ou la transformation de la prothrombine en thrombine par le complexe prothrombinase.
- **La formation de fibrine** ou la transformation du fibrinogène en fibrine.

Fibrinolyse ; elle dure 48 h à 72 h et permet de dissoudre le caillot de fibrine et le retour de la circulation à la normale.

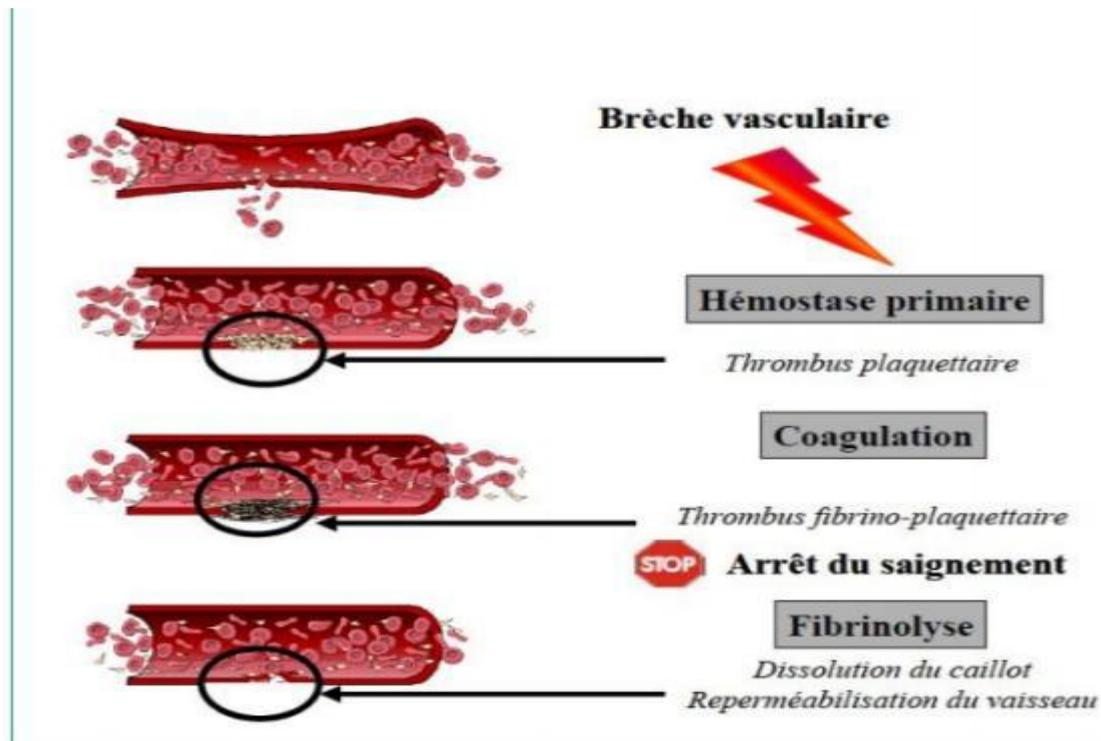


Figure 10 : les trois étapes de d'hémostase

2- Prélèvement sanguin

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse chez un sujet à jeun, ensuite le sang prélevé est recueilli dans un tube citraté, à bouchon bleu.

3- Appareil Start Max

Le Start Max est un analyseur semi-automatique, permettant la réalisation des tests explorant l'hémostase. (Figure 11).



11 : L'automate Start Max

4- Les tests explorant la coagulation

Les tests explorant l'hémostase II permettent de mesurer la capacité du sang à se coaguler tout en mesurant le temps nécessaire à la coagulation, ils sont utilisés pour le diagnostic étiologique d'un syndrome hémorragique, ou pour évaluer le risque hémorragique avant une intervention chirurgicale [6]. Comme ils permettent de surveiller l'état des personnes consommant des médicaments qui affectent la capacité de coagulation.

Avant toute réalisation, un interrogatoire du patient est nécessaire afin de savoir s'il a consommé des drogues qui peuvent fausser les résultats du test tels que l'aspirine ou les corticoïdes...

4-1 Le temps de céphaline activée (TCA)

❖ Principe [14], [15]

Appelé aussi TCK quand l'activateur utilisé est le kaolin. Le test explore la voie endogène (facteurs VIII, IX, XI et XII) et la voie finale commune (facteurs I, II, V et X). Il correspond au temps de coagulation d'un plasma déplaqueté, décalcifié et recalcifié en présence de céphaline et d'un activateur des facteurs.

Les résultats de TCA sont exprimés en secondes.

❖ Réactifs utilisés

- CaCl₂ (0,025 M)
- CK press-00598

❖ Mode opératoire

- Remplir les godets par les billes
- Mettre 50 µl du plasma (témoin, malade ou contrôle) + 50 µl de CK press
- Incubation pendant 3 minutes
- Mettre 50 µl de CaCl₂ et en déclenche le chronomètre en même temps.

❖ Valeurs de références

La valeur de référence dépend des réactifs utilisés, elle varie généralement de 30 à 40 secondes. Dans le Laboratoire d'accueil la normale varie entre 30 à 33 secondes.

On considère que le TCA est anormale lorsque le rapport temps du malade / temps de témoin est supérieur à 1,2, ou s'il dépasse 6 à 8 secondes celui du témoin.

L'allongement de TCA peut révéler [6] :

- Une anomalie à risque hémorragique, déficit en facteur anti-hémophilique A (Facteur VIII).
- Un déficit asymptotique, ne prédisposant pas à l'hémorragie (déficit en facteur XII).

Le TCA n'explore pas les plaquettes et donc n'est pas modifié en cas de thrombopénie ou thrombopathie.

3-2 Taux de prothrombine (TP) ou temps de Quick (TQ)

Le TQ correspond au temps qu'un plasma déplaqueté auquel on a ajouté la thromboplastine (extrait tissulaire) et le calcium.

Ce test permet d'explorer la voie exogène et la voie finale commune, il permet d'évaluer plus précisément l'efficacité de la coagulation faisant intervenir plusieurs facteurs (facteurs VII, V, X, II et le fibrinogène (facteur I).

Le TQ est normalement exprimé en secondes, mais peut aussi être exprimé en % par rapport à un témoin : c'est le temps de prothrombine.

Le TQ est exprimé par l'**INR** chez les patients sous AVK (anti-vitamine K). Il se calcule par le rapport TQ du patient et le TQ de témoin en prenant en compte de l'Indice de Sensibilité Internationale de la thromboplastine humaine (ISI). Cet examen permet une interprétation plus aisée et plus fiable que le TQ, il sera systématiquement prescrit dans les 24 heures avant une intervention chirurgicale chez un patient sous AVK.

$$\text{INR} = (\text{Temps du malade} / \text{Temps du témoin})^{\text{ISI}}$$

ISI = Indice de Sensibilité International

❖ Réactifs utilisés

Néoplastine-RE 00375

❖ Mode opératoire

- Remplir les godets par les billes
- Mettre 50 µl du plasma (témoin, malade ou contrôle)
- Incubation : initier l'incubation en appuyant sur le bouton déclencher. (Incubation 60 secondes).
- Mettre 100 µl de néoplastine et en déclenchant au même temps.

❖ Valeurs de références

Le taux de prothrombine normal varie entre 70 et 100 %

INR = 1

Un taux supérieur à 100 % n'a pas de signification pathologique et il est considéré comme normal, en revanche un taux inférieur à 70 % est considéré comme pathologique, et peut être le résultat d'un déficit en facteurs (II, V, VII, X), d'une atteinte hépatique sévère, d'un traitement anti coagulant par les antis vitamines k, ou de la présence d'anticoagulants circulants tels que antis II, V, VII, X ou l'antiprothrombinase.

II-3 Immuno-hématologie

L'immuno-hématologie, correspond à l'étude des propriétés antigéniques du sang ainsi que les réactions immunologiques correspondantes telles que le groupage sanguin, la recherche des anticorps anti-érythrocytaires et le test coombs.

❖ Prélèvement sanguin

Le prélèvement est réalisé sur sang veineux, ensuite le sang prélevé est placé dans un tube à bouchant noir contenant du citrate de sodium.

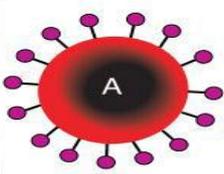
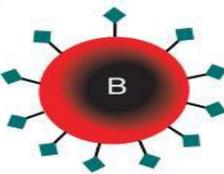
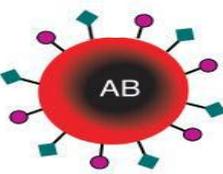
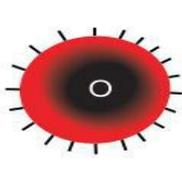
A- Groupage ABO-Rhésus

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substance antigénique à la surface des érythrocytes, en effet les hématies comportent une vingtaine de système mais les plus importants pour la transfusion sont les systèmes ABO et Rh. Les personnes qui présentent le même antigène appartiennent au même groupe sanguin.

I. Le groupe ABO

Les groupes ABO se définissent à la fois par les antigènes (Ag) présents sur l'hématie (A et B) et par les anticorps (AC) naturels réguliers (anti A et anti B) qui sont toujours présents dans le sérum chez tout les individus lorsque l'antigène correspondant est absent.

Tableau 3 : les différents antigènes et anticorps du système ABO

	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge				
Anticorps	 Anti-B	 Anti-A	Aucun	 Anti-A et Anti-B
Antigène	 Antigène A	 Antigène B	 Antigène A et B	Pas d'antigène

❖ La détermination du groupe ABO

C'est un examen prescrit dont le but est de déterminer le groupe sanguin d'une personne. Il est principalement utilisé dans le cadre d'une transfusion sanguine ou d'un don de sang, et chez la femme enceinte pour déterminer le risque d'avoir une incompatibilité Rhésus entre la mère et le fœtus. Ce groupe sanguin est déterminé par deux techniques différentes :

- Epreuve globulaire (Beth-Vincent)

Il permet l'identification des Ag globulaires à l'aide d'anticorps connus (sérum tests) (figure 12).

- Epreuve plasmatique (Simonin-Michon)

Il sert à l'identification d'AC naturels grâce à des Ag connus (hématies tests). (Figure 12).

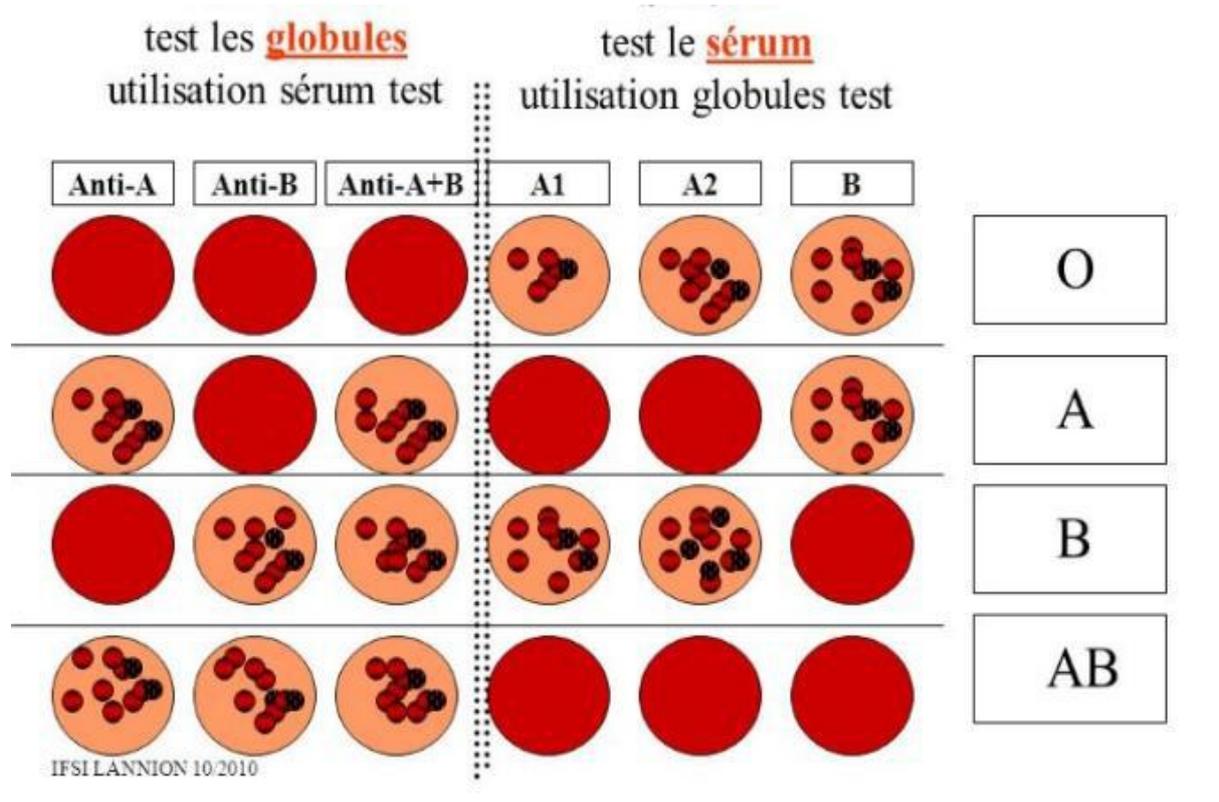


Figure 12 : Epreuve de Beth-vincent et de Simonin

II. Le groupe Rhésus

Le groupe Rhésus est un système complexe qui comprend plusieurs antigènes. Seuls 5 d'entre eux présentent un intérêt clinique en médecine transfusionnelle D, E, e, C, c.

Le gène RHD détermine l'expression d'une protéine exprimant l'Ag D. La présence d'antigène 'D' définit le groupe Rhésus positif (Rh+) et son absence définit le groupe Rhésus négatif (Rh-).

Les anticorps correspondant à l'antigène D n'existent pas d'une façon naturelle, or ils peuvent apparaître après une allo-immunisation lors d'une transfusion sanguine ou d'une grossesse incompatible.

L'Ag D est mis en place à l'aide de sérum test Anti-D.

- **Hématies + Anti D** —————> **agglutination +** —————> **Rh+**
- **Hématies + Anti D** —————> **agglutination -** —————> **Rh -**

❖ Réalisation pratique du groupage

La détermination du groupe sanguin, se fait de deux façons, sur plaque (figure 13) ou sur cassette (figure 15).

- Sur Plaque :



Figure 13 : La plaque du groupage sanguin

- **Réactifs utilisés**

Les Réactifs utilisés sont les anticorps : Anti-A, Anti-B et Anti Rhésus. (Figure 13).



Figure 14 : Les réactifs du groupage ABO-Rhésus

On dépose sur chaque Puits de la plaque une goutte de chacun des 3 sérums anti (A-B-D), puis on ajoute sur chacune de ces gouttes une goutte de sang à déterminer, on mélange les gouttes à l'aide des cure-dent et on observe l'agglutination.

- **Sur cassette : technique de Scan Gel**

Cette technique consiste à déposer une suspension de GR dans la cupule (contient déjà le gel imprégné de réactif spécifique de l'antigène érythrocytaire à déterminer), puis on centrifuge la cassette (figure 15).

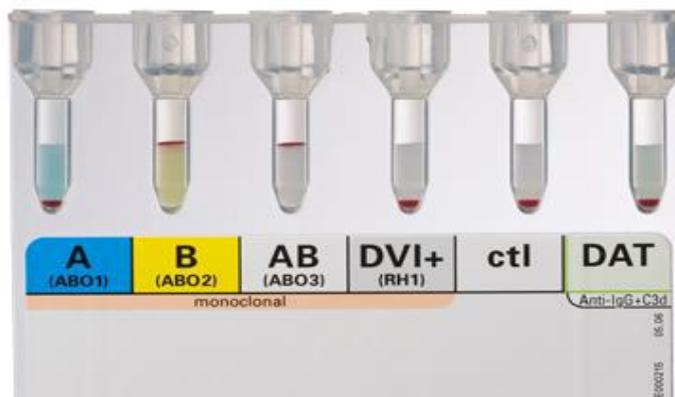


Figure15 : Cassette du groupage sanguin

Les GR non agglutinés sont collectés au fond de micro tube, en revanche les agglutinats sont retenus dans la hauteur de Gel en fonction de leur taille.

Lorsque le test de Beth-Vincent sur la plaque donne un résultat de Rh-, le test est confirmé par la technique sur plaque parce qu'elle est plus fiable.

B. Test coombs

Le test coombs appelé aussi test à l'anti globuline, c'est un examen de laboratoire qui permet de mettre en évidence des anticorps anti-érythrocytaires et il peut être de deux types : test coombs direct et test coombs indirect.

a) Test Coombs direct (TCD)

C'est un test qui permet la détection des anticorps anti-érythrocytaires qui se trouvent à la surface des GR et susceptibles d'entraîner leur destruction. Cet examen est utile dans la recherche de diagnostic d'une anémie hémolytique auto-immune (AHAI), anémie hémolytique chez le nouveau né (AHNN) ou des incompatibilités transfusionnelles.

b) Test Coombs indirect (TCI)

La recherche d'anticorps irréguliers (RAI) est un examen qui permet 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 ou chez une femme enceinte en vue de détecter une incompatibilité fœto-maternelle. Les anticorps recherchés ne sont pas des auto-anticorps puisqu'ils ne reconnaissent pas les GR de sujet, mais des 'allo-anticorps', résultant d'une allo-immunisation [16].

❖ Prélèvement sanguin

Le prélèvement est réalisé sur sang veineux, puis le sang prélevé est placé dans un tube à bouchon rouge qui ne contient aucun anticoagulant, le sang va donc pouvoir coaguler dans le tube.

❖ Matériel

Le matériel utilisé est commun pour les deux tests : les cartes gel de test coombs (figure 16)

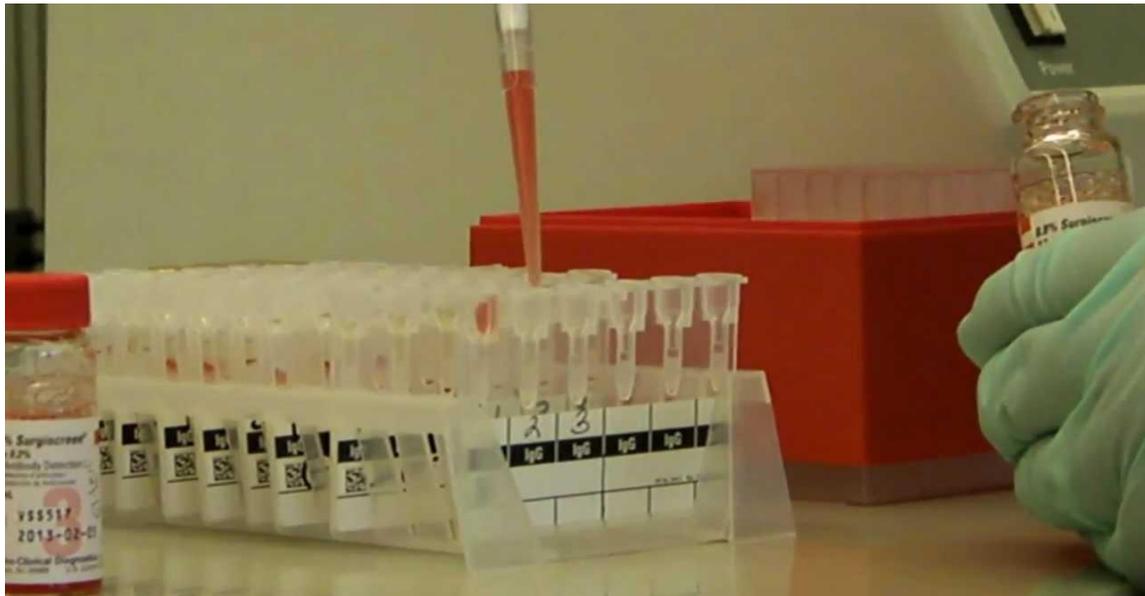


Figure 16 : Les cassettes de test coombs

❖ Mode d'analyse

- Test direct à l'anti-globuline

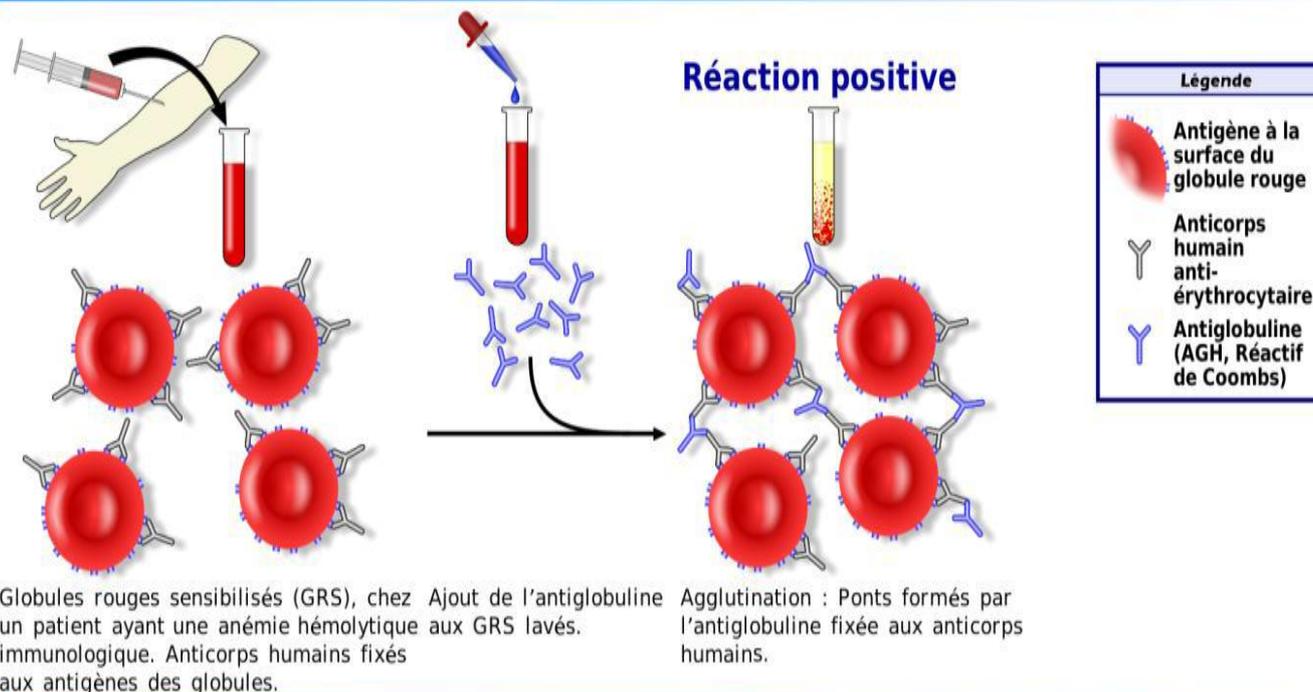
Le test direct à l'anti globuline, il est appelé direct car les érythrocytes du patient sont directement mis en contact avec des anti-globulines artificielles (anti-globulines du lapin) en une seule réaction. Ces anti-globulines ont la capacité de se fixer sur les anticorps humain. Si les conditions expérimentales le permettent il y'aura formation d'agglutinats. Il s'agit donc d'une réaction d'agglutination artificielle entre Ag-AC (figure 17).

- Test indirect à l'anti-globuline

Le test indirect à l'anti globuline, c'est un examen qui consiste à faire réagir un sérum (ou un plasma) inconnu sur un certains nombre de GR tests c'est à dire dont les divers groupes sanguins connus. Ce test de coombs est dit indirect vu qu'il comprend deux phases. Au cours de la première le sang du patient est centrifugé pour pouvoir récupérer le sérum, ce dernier est mis en contact avec les hématies d'un donneur sain, (phase sensibilisation).

La deuxième phase elle est la même que celle du test direct (des lavages sont réalisés et le sérum est mis en solution avec les antis globulines, (phase de révélation) (figure 17).

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline



Test de Coombs indirect / Test indirect à l'antiglobuline

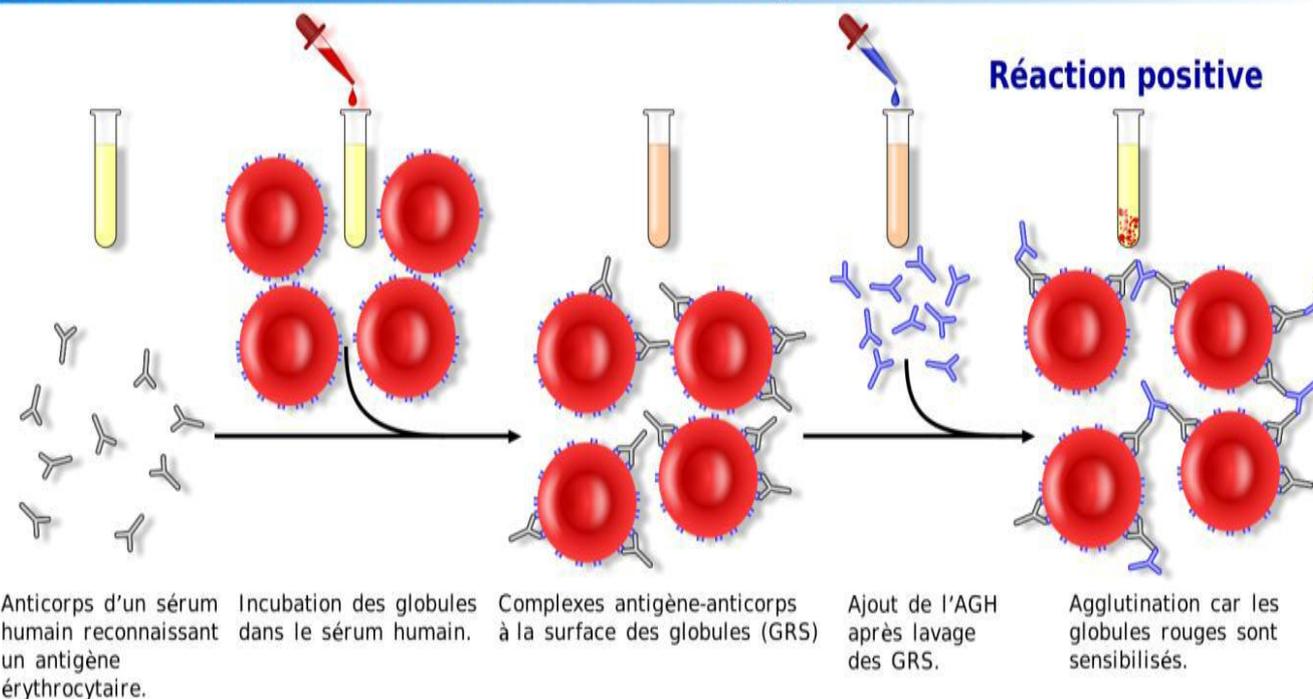


Figure 17 : Test direct et indirect à l'anti-globuline

La présence de ces anticorps peut être due à des transfusions antérieures, des grossesses antérieures, ou d'une auto-immunisation due à un dérèglement du système immunitaire peut provoquer lors de transfusion des produits sanguins une inefficacité de la transfusion (destruction des GR) qui peut avoir des conséquences clinique graves (choc transfusionnel).

Conclusion

L'hématologie est une spécialité médicale qui s'occupe de l'étude du sang et des pathologies associées.

Le laboratoire d'hématologie joue un rôle important dans le diagnostic et le suivi des maladies associées au sang « le sang est un ordinateur transmettant les messages, un mémoire où se reflètent les maladies de nos viscères ».

Les renseignements recueillis par l'étude du sang guident le clinicien dans le diagnostic des maladies et leur traitement, car le sang reflète l'état des organes. Il nous permet aussi d'avoir des précisions sur la prédisposition à certaines maladies.

Références Bibliographiques

1. **LTTALIEN.R, LORD DUBE.H.** (2 Ed). Hématologie
2. **DELABESSE.E, CORREL.J, YSEBAERT, LAHARRAGUE.P, LAURENT.G.**
Sémiologie hématologique. DCEM 1 Faculté de Médecine Toulouse-Rangueil. Février, 2010
3. **Yagoubi.S.** Le tissu sanguin. Université ammar telidji laghouat Faculté de médecine
4. **HARMOUCHI.I.** Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate. Faculté de Médecine et de Pharmacie-Marrakech, 2020
5. **HARALAD.T, HEINZ.D, TORSTEN. H.** (2Ed). Atlas de poche d'hématologie, 2006
6. **RAHALI.F.** Guide d'hématologie clinique à l'usage de l'étudiant en médecine en stage hospitalier. Faculté de Médecine et de Pharmacie-Marrakech, 2018
7. **Valensi.F.** Morphologie des cellules sanguines normales. EMC-Hématologie, Vol. 2, no 1, p. 1-13, mars 2005
9. **AMOU.C.** Confession, coloration et examen des frottis .Université d'Abomey-Calavi au Bénin, Mémoire online, 2002
10. **ARDOUNI.S.** HEMOGRAMME : AVANCEES ACTUELLES .Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat, 2013
13. **EL ABIDA.K.** Cours d'hématologie .Faculté des Sciences et Technique-Fès, filière SBAS, 2020
14. **Revel.T, Doghmi.k.** Physiologie de l'hémostase. Encyclopédie Médico Chirurgicale-Dentisterie, 2004
15. **Jamain.A, clergeau.LP, Leborgne.S.** Prise en charge du risque hémorragique en otologie.Université de Nantes, 2008
16. **Casassus.P.** LECTURE DE L'HEMOGRAMME 50 NFS COMMENTEES

Références Webographiques

8. Frottis sanguin normal coloré au May Grunwald Giemsa

<http://pedagogie.ac-montpellier.fr/Disciplines/sti/biothechn/hemato.html>

11. campus.cerimes.fr/hematologie/enseignement/hematologie_316/site/html/cours.pdf

12. [http : www.doctissimo.fr/html/Sante/analyses/sa_718_edimen.htm](http://www.doctissimo.fr/html/Sante/analyses/sa_718_edimen.htm)