

**UNIVERSITE MOHAMMED V SOUISSI  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE RABAT**

**UFR D'HEMATOLOGIE**

**MANUEL DE STAGE D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE**

**3<sup>EME</sup> ANNEE DE MEDECINE  
3<sup>EME</sup> ANNEE DE PHARMACIE**

# ENSEIGNANTS D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

PES	Najia Benkirane Agoumi Mbarek Naji Chahrazad Benabdellah Guédira Majid Benkirane
Pr Agrégés	Abdelkader Belmekki Azlarab Masrar
Pr Assistants	Mona Nazih Nezha Messaoudi Mohamed Chakour Souad Benkirane Mostafa Bahji Anass Jeaidi

## **Recommandations**

*L'étudiant de 3<sup>ème</sup> Année a 4 heures de présence au laboratoire (8h30-12h30).*

*Aucun retard n'est toléré.*

*Le port de la blouse est obligatoire.*

*L'étudiant doit connaître le contenu du manuel de stage sur lequel il sera interrogé.*

*A son arrivée à la paillasse de stage l'étudiant doit présenter son manuel qui sera noté (Répondre aux questions des pages 17 et 18).*

## **Concept de base de la biologie médicale**

Une analyse biologique est indiquée et interprétée dans un contexte bien défini :

Au moment du diagnostic d'une maladie,  
Celui des consultations et du suivi thérapeutique,  
Enfin au moment de la décision d'arrêt du traitement soit à la guérison de la maladie.

Un résultat inattendu doit être confirmé, plusieurs paramètres entre l'étiquetage du prélèvement et la validation du résultat peuvent être à l'origine d'une erreur de « laboratoire ».

## **Terminologie**

### **Sensibilité :**

C'est l'habilité du test à détecter l'anomalie, l'augmentation de la sensibilité augmente les résultats positifs.

### **Spécificité :**

C'est l'habilité de l'analyse à détecter le résultat normal lorsqu'il n'y a pas d'anomalie.

### **Précision :**

C'est la reproductibilité des résultats lorsque le test est reconsidéré.

### **Accurance ou exactitude :**

C'est l'habilité de l'analyse à retrouver le résultat porté sur l'échantillon standard.

### **Valeur prédictive positive :**

Lorsque la positivité du test indique un diagnostic positif de la maladie (test de précipitation de l'Hémoglobine et présence d'HgbS).

### **Valeur prédictive négative :**

Lorsque la négativité du test exclue la maladie (exemple D-dimères).

# **HEMATOLOGIE CELLULAIRE**

## **HEMOGRAMME**

# AUTOMATISME EN HEMATOLOGIE

Les automates compte-globules permettent de chiffrer le nombre d'éléments sur un grand nombre de cellules comptées ; ceci permet une meilleure numération de cellules avec statistiquement un minimum d'erreur.

## **Système Counter**

Basé sur la mesure de l'impédance :

Mesure de la variation de résistance électrique au passage d'une cellule. Le liquide de dilution étant plus conducteur que ne sont les cellules, chaque passage correspond à une baisse de conductivité électrique, la chute de tension électrique est proportionnelle à la taille de la cellule.

Ex :

Coulter Beckman (Laboratoire Ibn Sina).

Sysmex (II, Baxter diagnostic, Vaukegan).

Celldyn (abott diagnostic, Santaclara, CA).

## **Méthode optique**

La cellule de sang dévie le rayon de lumière en fonction de leur taille, le taux de lumière déviée est fonction de la granularité ou de la forme du noyau.

## GLOBULES ROUGES (GR)

L'automate mesure :

1. Le nombre de cellules par unité de volume exprimé pour les GR en Tera par litre ou  $10^6/\text{mm}^3$

Les valeurs normales chez l'adulte sont

- Femme : 4 à 4,5  $10^{12}/\text{L}$
- Homme : 5 à 5,5  $10^{12}/\text{L}$

### 2. Dosage de l'Hgb

La concentration de l'hémoglobine (oxy-Hgb, Méthé-Hgb, et carboxy-Hgb) par l'action du ferrocyanure de potassium (réactif de Drabkin). La cyanMé-Hgb obtenue est stable, elle est dosée par spectrophotométrie à 540nm.

Des artéfacts peuvent fausser les résultats (turbidimétrie augmentée par défaut d'hémolyse, hyperleucocytose, paraprotéinémie, hyperlipidémie).

Valeurs normales :

- Femme : 12 à 16 g/dL
- Homme : 13 à 18 g/dL

Une valeur inférieure à la normale définit l'anémie.

### 3. Taille

La taille cellulaire une agglutination des GR ou une hyperglycémie augmente artificiellement le MCV. L'automate trace la courbe de Price Jones et détermine la valeur moyenne du volume de GR ou **MCV** exprimé en femtolitre ( $10^{-15}\text{L}$ )

Valeurs normales : 80 à 98 fl

Dans les anémies :

Un MCV normal définit l'anémie normocytaire.

Un MCV inférieur à la valeur normale définit l'anémie microcytaire.

Un MCV supérieur à la valeur normale définit l'anémie macrocytaire.

4. Les autres paramètres sont calculés.

**Hte** exprimé en % =  $\frac{\text{MCV (femtolitre)} \times \text{GR}}{10}$

Valeurs normales :

- Femme : 37 à 47 %
- Homme : 40 à 54%

Valeur supérieure à la normale définit la polyglobulie.

**MCH** exprimé en picogramme ( $10^{-12}g$ ) =  $\frac{\text{Hgb g/dl} \times 10}{\text{GR}}$

Valeurs normales : 27 à 32 pg (normochromie)

MCH inférieur à la valeur normale définit l'hypochromie.

**MCHC** exprimé en g d'Hgb/dL de culot de GR ou en % =  $\frac{\text{Hgb g/dlx100}}{\text{Hte}}$

Valeurs normales : 32 à 36 % (normochromie)

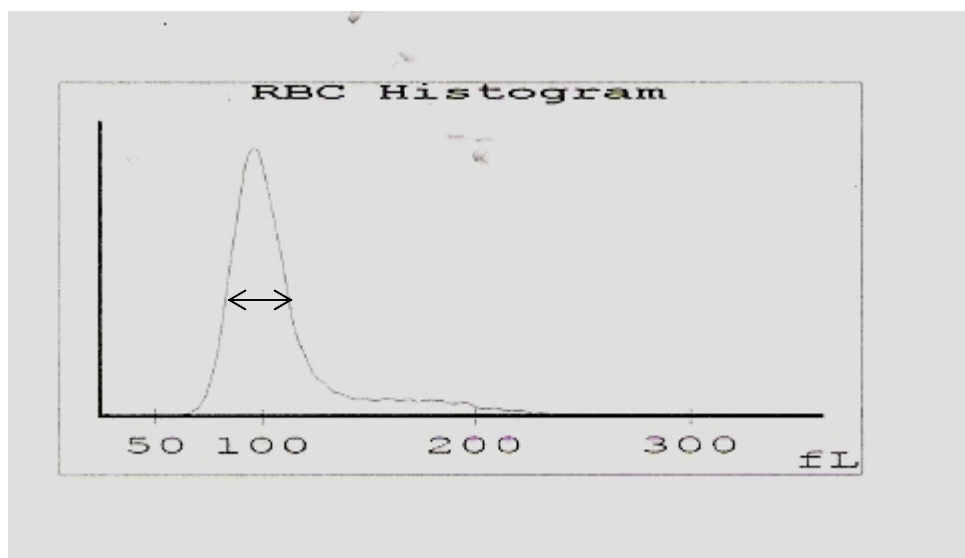
MCHC inférieur à la valeur normale définit l'hypochromie.

Indice distribution des GR ( **RDW** Red cell Distribution Width) est obtenu par calcul mathématique et donne l'aspect de l'anisocytose éventuelle et à moindre degré la poïkilocytose.

$\text{RDW} = (\text{Dérivation standard des GR/MCV}) \times 100$

RDW peut être exprimé en déviation standard soit fL :  $42.5 \pm 3.5$  ou en coefficient de variation soit % :  $12.8 \pm 1.2$

Courbe de Price Jones



$$\text{RDW-CV} = \frac{\text{Largeur du pic à mi-hauteur} \times 100}{\text{MCV}}$$

## GLOBULES BLANCS

Le taux de GB est exprimé en giga/L ou  $10^3/\text{mm}^3$ .

Valeurs normales : 4 à 11.

Valeur inférieure à la valeur normale définit la leucopénie.

Valeur supérieure à la valeur normale définit l'hyperleucocytose.

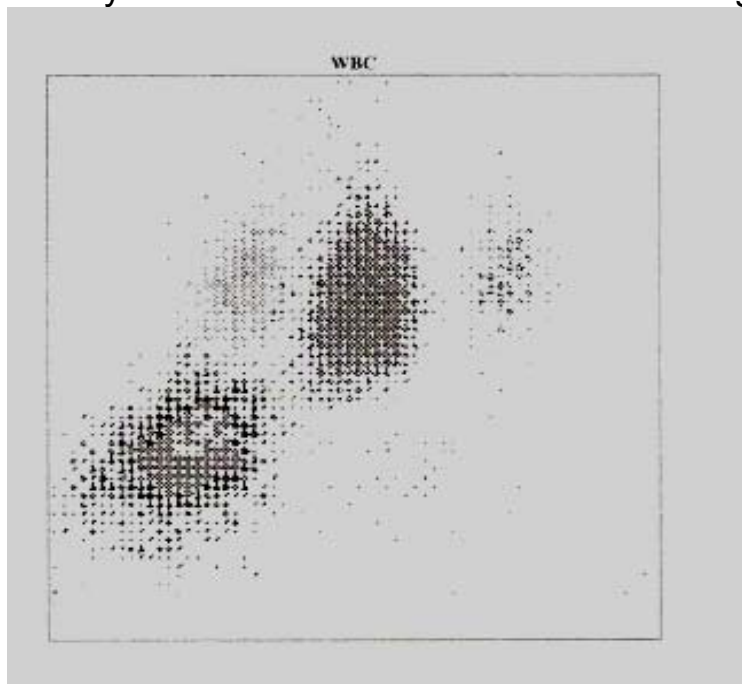
Principe de la différentielle en automatisme :

Technicon : diffraction de lumière + peroxydase.

Coulter : impédance électrique, diffraction de la lumière et conductivité.

Sysmex : résistance à la lyse de l'éosinophile et basophile dans un détergent spécifique et à température variée.

Cell dyn : diffraction de la lumière dans 4 angles différents.



**Histogramme des GB.**

### Valeurs normales :

**PNN** : 50 à 70% soit 1,8 à 7,7

Valeur inférieure à 1,5 giga/l : neutropénie

Valeur inférieure à 0,3 giga/l : agranulocytose

Valeur supérieure à 7,7 giga/l : hyperneutrophilie

**Lymphocyte** : 20 à 40% soit 0,9 à 4 giga/l

Valeur inférieure à 0,9 giga/l : lymphopénie

Chez les sujets HIV+ lorsque le taux de L-CD4 chute au dessous de  $200/\mu\text{L}$ , les signes cliniques du SIDA apparaissent.

Valeur supérieure à 4 giga/l : hyperlymphocytose

**Monocyte** : 3 à 7% soit 0,4 à 0,8 giga/l  
Valeur supérieure à 1 giga/l : monocytose

**PNE** : < 0,5 giga/l  
Valeur supérieure à 0,8 giga/l : hyperéosinophilie

**PNB** : < 0,2 giga/l  
Valeur supérieure à 0,4 giga/l : hyperbasophilie

## PLAQUETTES

L'automate donne le taux de PLT et le MPV ou volume moyen plaquettaire 6.3 à 10.1 fL, PDW 15.3 à 17.3.

Le taux normal est de 150 à 400 giga/L

Valeur inférieure à 150 giga/L définit une thrombopénie,

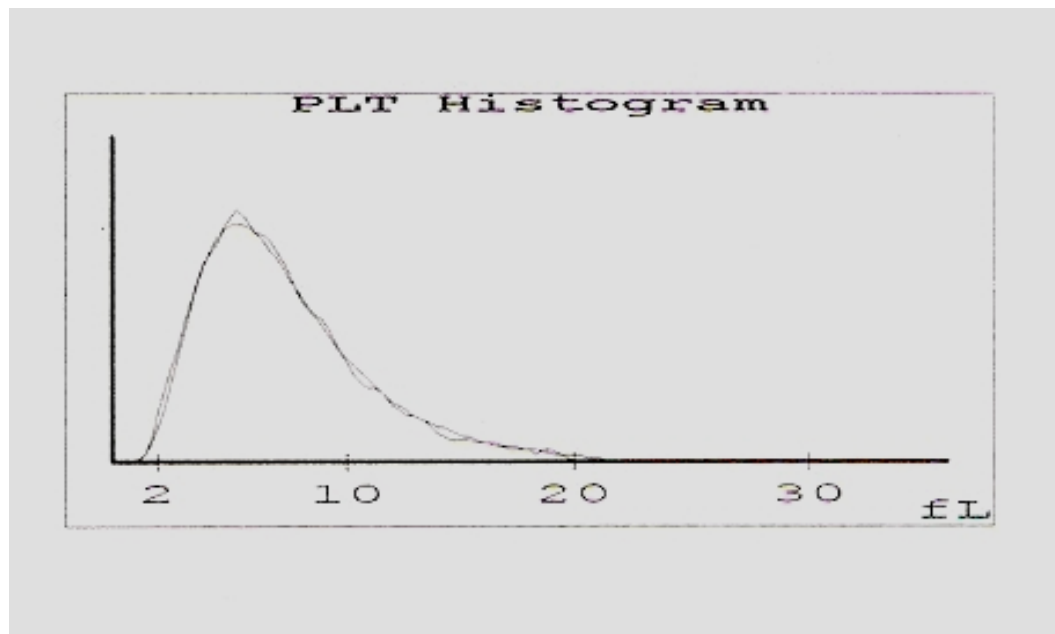
Valeur supérieure à 500 giga/L définit une thrombocytose.

Le MPV est augmenté dans l'Hypertyroïdie et SMP,

Il est diminué dans la mégacaryopénie.

Fausse thrombocytose dans les anémies microcytaire (fragmentation de GR).

Fausse thrombopénie liée à l'EDTA chez certains patients.



## NUMERATION DES RETICULOCYTES

Les réticulocytes sont les précurseurs anucléés des GR, ils sont reconnaissables après coloration vitale par le bleu de crésyl brillant

Les réticulocytes reflètent quantitativement la production quotidienne de GR par la MO

La numération des réticulocytes est donnée par l'automate.

Valeurs normales :

0,8 à 2,5 %,

En valeur absolue : 20 à 80 giga/L

Valeur supérieure à 120 giga/L (anémie régénérative)

# HEMOGRAMME EN HEMATIMETRIE

Il est réalisé :

Pour l'Hgb selon les mêmes principes de dosage qu'en automatisme,

Pour l'hématocrite par la centrifugation d'un microhématocrite à 8000t/minute 4minutes,

Le calcul des paramètres de GR,

Les dilutions en cellules fermées (Malassez, Thomas, ...) sont lues au microscope pour les numérations de GR, GB et PLT.

L'examen morphologique des cellules et la détermination de la différentielle sont réalisés au microscope sur un frottis sanguin coloré au MGG.

## ASPECT MORPHOLOGIQUE

### 1. Confection du frottis

Il doit être confectionné à partir d'un prélèvement au bout du doigt.

*En pratique, les prélèvements veineux sur anticoagulant EDTA peuvent être utilisés pour la confection de frottis sanguin.*

Déposer une microgoutte de sang sur l'extrémité droite de la lame hématologique préalablement lavée à l'eau savonneuse et séchée,

Placer l'étaleur au devant de la goutte (voir figure)

Incliner l'étaleur, le sang suit alors l'arrête par capillarité, et aussitôt étaler d'un seul geste en levant la main lorsqu'on arrive vers l'extrémité gauche de la lame hématologique.

Environ 76 x 26 mm. Epaisseur standard env. 1 mm - qualité de verre non frost pour permettre la conservation éventuelle à froid.

Sécher rapidement à l'aide d'un séchoir ou simplement par agitation à l'air.

### 2. coloration panoptique

Elle est réalisée dans des boîtes de Laveran

- May Grunwald pur : 3minutes

Au cours de cette étape les frottis sont fixés à l'alcool méthylique du colorant.

- May Grunwald dilué au 1 /2 : 2 à 3minutes
- Giemsa dilué au 1/10 à l'aide d'eau tamponnée à pH7,2 : 30min

Rincer ensuite sous un jet d'eau neutre.

Les lames colorées sont égouttées et séchées à l'air.

### 3. Lecture au microscope

#### **Etude morphologique des GR**

Reconnaître une :

- Anomalie de taille du GR
  - o Anisocytose,
  - o Microcytose,
  - o Mégalocytose,
- Anomalie de forme du GR
  - o Codocyte ou GB en cible
  - o Dacryocyte
  - o Sphérocyte,
  - o Schizocyte,
  - o Elliptocytes
  - o Drépanocyte,
- Des inclusions dans le GR
  - o Grains de Pappenheimer (anémie hypochrome hypersidérémique, thalassémie),
  - o Ponctuations basophiles (saturnisme),
  - o Corps de Howell Jolly
  - o Anneau de Cabot
- Précurseur du GR
  - o Erythroblastes,

#### **Différentielle ou Formule leucocytaire**

*L'étudiant doit faire le schémas de chacune des 5 GB du sang à l'emplacement réservé pour cet usage (page 12)*

*Il doit les différencier des précurseurs nucléés du GR et corriger la numération des GB.*

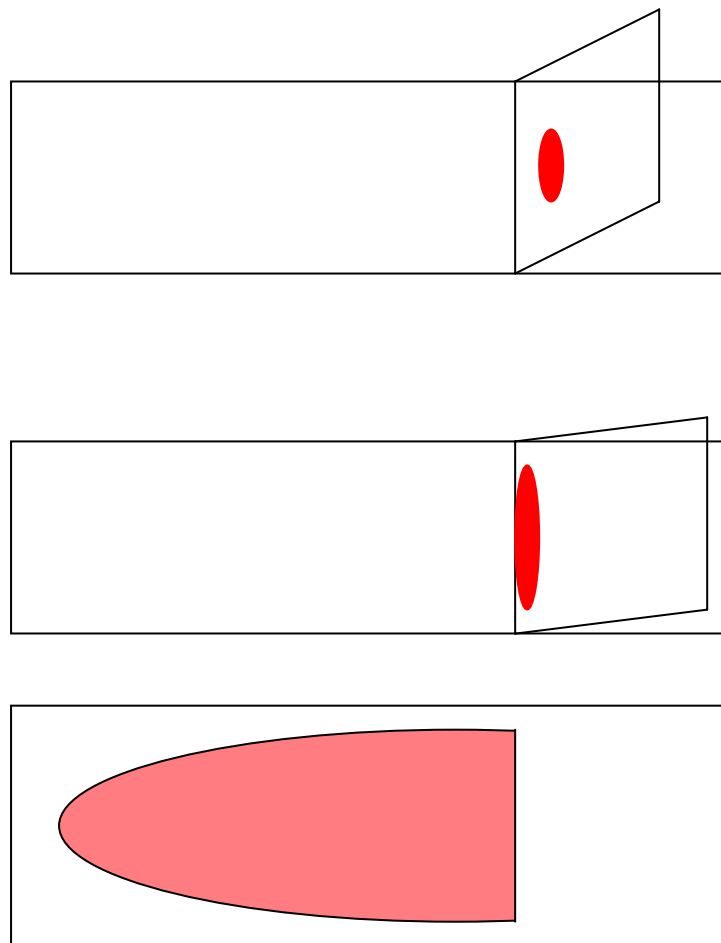
#### **Quelques exemples d'anomalies des GB**

- Granulations toxiques, et corps de Döhle (phase aiguë d'une infection),
- Déviation à gauche de la formule d'Arneth ou Pseudopelger (syndromes myélodysplasiques SMD)
- Déviation à droite de la formule d'Arneth (anémie mégaloblastique carencielle)
- Précurseurs du PNN : métamyélocytes, myélocytes (myélémie, syndrome myéloprolifératif SMP)
- Granuleux immatures : Myéloblastes et promyélocytes (leucémie aiguë LA),

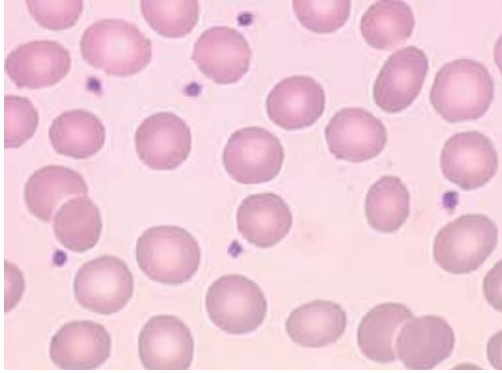
- Lymphocytes hyperbasophiles (Syndromes mononucléosiques)

### **Examen morphologique des PLT**

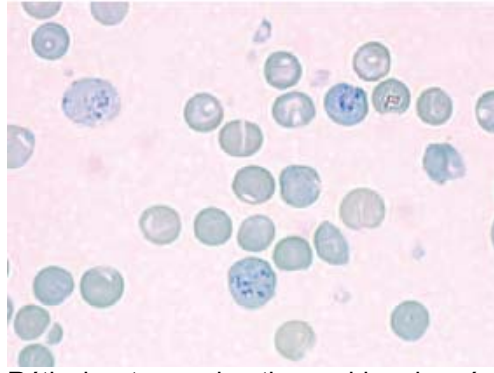
Permet d'apprécier la taille et d'identifier les macrocythrombopénies, La répartition en amas des PLT et de contrôler les fausses thrombopénies (voir automatisme en hématologie).



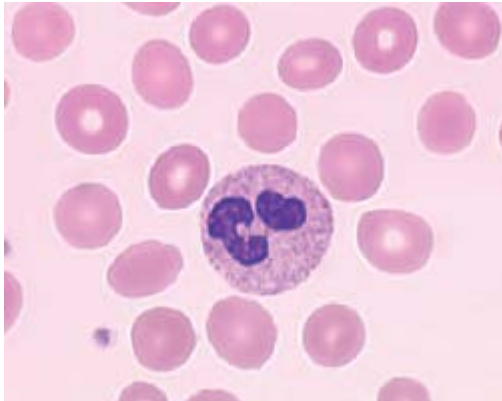
***Tableau 1 Confection de frottis sanguin.***



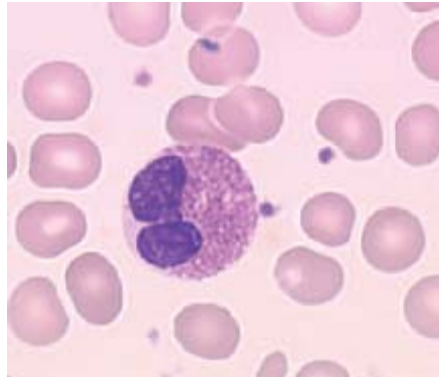
Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Globules rouges et plaquettes sanguines.



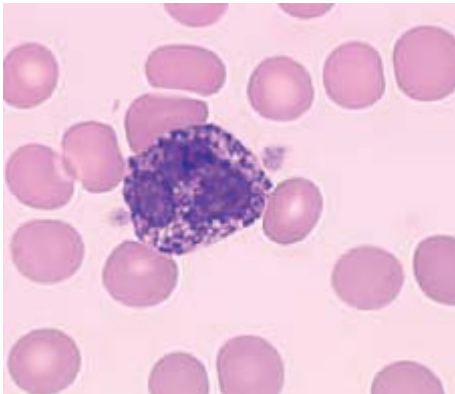
Réticulocytes : coloration au bleu de crésyl.



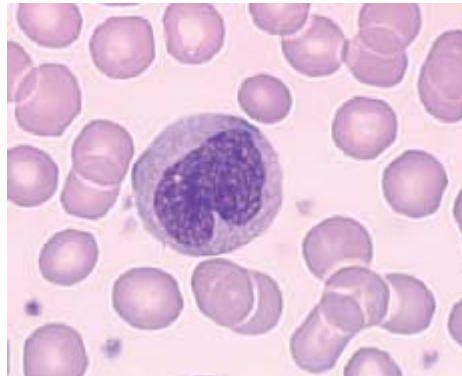
Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Polynucléaire neutrophile.



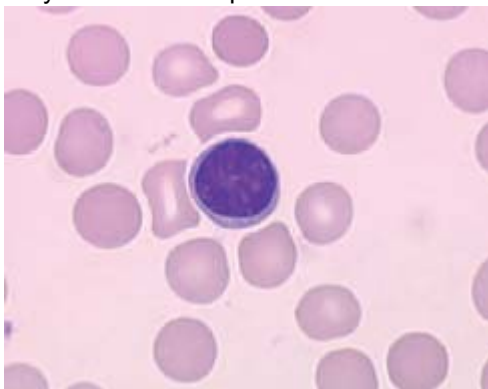
Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Polynucléaire éosinophile.



Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Polynucléaire basophile.



Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Monocyte.



Frottis de sang coloré au MGG. Gr  $\times 1\ 000$ .  
Lymphocyte.

## Cellules normales du sang.

# HEMOGRAMME : VARIATIONS PATHOLOGIQUES

## GR

### ANEMIE

Anémie microcytaire hypochrome :

- Carence martiale
- Anémie hypochrome hypersidérémique (Thalassémies, saturnisme....)
- Anémie des affections chroniques (Cancers, maladies vasculaires, infections chroniques..)

Anémie macrocytaire :

- Carence vitaminique
- Alcoolisme,
- SMD
- Chimiothérapie antifolinique

Anémie normocytaire:

- Hyperhémolyse
- Spoliation aigue

### POLYGLOBULIES

# DIAGNOSTIC D'UNE ANEMIE MICROCYTAIRE

L'anémie par carence martiale est la plus fréquente.

## Physiopathologie

La diminution des réserves est le premier stade de la carence

La diminution du fer circulant traduit l'épuisement progressif des réserves alors que l'hématopoïèse n'est pas encore touchée.

La synthèse de l'Hgb défaillante associée à une activité mitotique des érythroblastes normale, est à l'origine d'une microcytose hypochrome.

La conséquence est une hypoxie par manque de l'oxyhémoglobine et non soignée, elle peut causer la mort par infarctus du myocarde.

## Diagnostic positif

	<b>A.Car</b>	<b>A. m. chr.</b>	<b>Trait Thal</b>	<b>A.Sidéro</b>
<b>MCV</b>	↓	↓	↓	↓
<b>Fe sér</b>	↓	↓	<b>N</b>	↑
<b>Coef saturat. Transferrine</b>	↓<10%	<b>N ou ↓</b>	<b>N</b>	↑
<b>Ferritinémie</b>	↓<10µg/L	↑	↑	↑
<b>Récept. de transferrine Tf-R (8.9µM-27.9µM)</b>	↑	<b>N ou ↓</b>	↑	↑

Tableau 2 Exploration d'une anémie microcytaire.

**Etude de cas**

Bilan H202/05

Patiente de 45 ans, hospitalisée en MC pour HTP.

ATCD : cholecystectomie , opérée pour kyste hydatique du foie.

Présente des hématuries et une SMG avec douleurs abdominales.

**Hémogramme:**

GR	2.9
Hgb	6
Hte	20.9
MCV	70.5
MCH	20
MCHC	28
RDW	22
GB	7.3
PLT	60

Commenter et préconiser les tests qui permettent le diagnostic étiologique.

GR.....

.....

.....

GB.....

.....

PLT.....

.....

Bilan H197/05

Jeune homme de 13 ans, consulte en pédiatrie de Salé pour pâleur.

### L'hémogramme

GR	5.9
Hgb	9.8
Hte	33.4
MCV	56.5
MCH	16.6
MCHC	29.3
RDW	14
GB	12.6
PLT	535

Commenter et préconiser les tests qui permettent le diagnostic étiologique.

GR.....

.....

.....

GB.....

.....

PLT.....

.....

# GLOBULES BLANCS

## Hyperneutrophilie :

- infections bactériennes
- certaines intoxications (Pb, urémie)
- néoplasies

## Neutropénie :

- Toxiques : antimétabolites
- Hypothyroïdie
- Typhoïde
- Brucellose

## Lymphocytose :

- SLP
- Syndromes mononucléosiques
- Infections virales

## Lymphopénie :

- HIV
- LED et collagénoses

## Monocytose :

- tuberculose
- brucellose
- syphilis
- septicémie
- plasmodium
- rickettsiose
- sarcoïdose

# PLAQUETTES

Thrombopénie :

- PTI
- CIVD
- Hypersplénisme

Thrombocytose :

- Post splénectomie
- Thrombocythémie essentielle

Valeurs	Homme			Femme		
	minimum	moyenne	maximum	minimum	moyenne	maximum
RBC (Tera/L ou $10^6/\text{mm}^3$ )	4.5	5.5	6.5	3.8	4.8	5.8
HGB (g/dl)	13	15.5	18	12	14	16
HCT (%)	40	47	54	37	42	47

	Minimum	Moyenne	Maximum
MCV (fl)	80	89	98
MCH (pg)	27	29.5	32
MCHC (g/dl)	32	34	36
RDW	13±1.5		
Rétic/ $\mu\text{L}$	20000	50000	80000

	Minimum	Maximum
GB Giga /L, $10^3/\mu\text{L}$	4	11
Polynucléaire neutrophile	1.8	7.7
Polynucléaire éosinophile	0.040	0.50
Polynucléaire Basophile	0.040	0.20
Monocyte	0.20	0.80
Lymphocyte	0.9	4

**Tableau 3- Hémogramme**

# HEMOSTASE

# Temps de saignement TS

## Principe

Le temps de saignement mesure la durée de l'hémorragie provoquée par une brèche dermoépidermique. Il explore l'hémostase primaire.

## Indication

Bilan d'une hémorragie cutanéomuqueuse.

## Méthode de Duke

### Matériel :

Vaccinostyle  
Papier filtre épais  
Chronomètre  
Coton imbibé d'éther  
Gants

### Technique :

Désinfecter le lobule de l'oreille à l'éther.  
Attendre au moins une minute  
Réaliser une piqûre franche de la peau du lobule d'une profondeur de 1mm.  
Déclencher le chronomètre au moment où apparaît la première goutte de sang.  
Absorber le sang avec le papier filtre toutes les 30 secondes jusqu'à l'arrêt de l'hémorragie.

### Remarque :

Cette technique peut être réalisée au talon chez le nourrisson.

### Résultats :

Le TS normal est inférieur à 4mn, il est allongé s'il est supérieur à 5mn

## METHODE D'IVY INCISION

### **Matériel :**

Appareil de mesure de la pression artérielle  
Vaccinostyle  
Papier filtre épais  
Chronomètre  
Coton imbibé d'éther  
Gants

### **Technique :**

Mettre en place le brassard le l'appareil à tension et régler la pression à 4 cm d'Hg qui doit être maintenue le long du test.  
Désinfecter la peau de l'avant bras par l'éther. Attendre au moins une minute  
Réaliser une incision de 1 cm de long et 1 mm de profondeur.  
Déclencher le chronomètre, absorber le sang avec le papier filtre toutes les 30 secondes jusqu'à l'arrêt de l'hémorragie.

### **Résultats :**

TS normal est inférieur à 8 mn, il est allongé s'il est supérieur à 10mn.

## METHODE D'IVY 3 POINTS

Au lieu d'appliquer une incision, réaliser 3 points de piqûres espacés d'un centimètre et formant les sommets d'un triangle.

### **Résultats :**

Le TS normal est inférieur à 4mn, il est allongé s'il est supérieur à 5 mn.

### **Variations pathologiques TS allongé :**

Thrombopénies  
Maladie de Von Willebrand  
Déficits constitutionnels ou acquis en fibrinogène,  
Thrombopathies.

# LE TEMPS DE QUICK TP

## I- Principe

Le temps de Quick est le temps de coagulation d'un plasma citraté, recalciifié en présence d'un excès de facteur tissulaire et de phospholipides.

Le temps de Quick consiste à comparer en présence de thromboplastine calcique, les temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes par rapport à un plasma témoin normal traité dans les mêmes conditions.

Le temps de Quick est exprimé en secondes. Le résultat est converti

- En pourcentage d'activité ou « TP »
- En INR chez le sujet traité aux anticoagulants oraux.

## II- Indications

- Bilan préopératoire,
- Bilan hépatique
- Bilan d'une hémorragie,
- Surveillance de traitement AVK

## III- Matériel et Méthode

Prélèvement citraté (9 parties sang, 1partie citrate trisodique), centrifugé 10 minutes à 2500g, le plasma pauvre en plaquettes peut être congelé à -30°C.

### Réactifs

- thromboplastine calcique lyophilisée
- Tampon type Koller
- Pool de plasmas normaux
- Contrôle normal et pathologique.

### Mode opératoire

#### Préparation de la gamme d'étalonnage :

La gamme d'étalonnage est réalisée à l'aide de plasma étalon titré à 100% : le diluer au 1/2, 1/4, 1/8 <sub>25</sub> en tampon Owren Koller.

- Le plasma pur correspond à un taux de prothrombine de 100%.
- La dilution au  $\frac{1}{2}$  correspond à un taux de prothrombine de 50%.
- La dilution au  $\frac{1}{4}$  correspond à un taux de prothrombine de 25%.
- La dilution au  $\frac{1}{8}$  correspond à un taux de prothrombine de 12.5%.

## Technique

Dans un tube à hémolyse à 37°C introduire successivement :

- Plasma.. .....0.1 ml (laisser incuber environ : 2minutes)
- En déclenchant un chronomètre, ajouter la thromboplastine  
....0.2 ml
- Mélanger et noter le temps de coagulation.
- A partir de cette droite d'étalonnage, déduire les taux de prothrombine des échantillons de patients à étudier.
- Calculer l'International Normalized Ratio ou INR si nécessaire.

$$\text{INR} = (\text{TQM} / \text{TQ T})^{\text{ISI}}$$

## Résultats

Valeurs normales TP= 70 à 100%

Patient sous traitement AVK : INR 2 à 3.5

# TEMPS DE CEPHALINE + ACTIVATEUR TCA

## Principe

Le TCA consiste en la coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes recalcifié en présence de phospholipides (PL) et d'un activateur (acide ellagique).

Comme le temps de Quick le TCA est un test d'orientation et de première intention dans le bilan d'hémostase.

Le TCA explore la coagulation faisant intervenir le système contact anciennement dénommé voie endogène du système de la coagulation. Autrement dit, il sera perturbé dans les désordres en F I, II, X et V, IX et VIII, XI et XII, Kininogène HPM et Prékallikréine.

## Indications

Bilan préopératoire

Bilan d'une hémorragie

Surveillance de l'héparinothérapie curative (HNF)

Syndrome des antiphospholipides

## Matériel et réactifs

Le TCA peut être déterminé par méthode manuelle ou automatique

Matériel et accessoires	Réactifs
BM thermostaté à 37°C	-Céphaline lyophilisée (céphaline reconstituée par la solution de l'activateur, puis incubée en tube à hémolyse en plastique à 37°C)
Micropipettes 0,1	-Activateur
Chronomètre	-Ca Cl <sub>2</sub>
Gants	-Plasma témoin
Crochets	-Contrôles normal et pathologique
Compresse	
Cristallisoirs contenant l'eau javellisée	
Tubes à hémolyse en verre	

### **Tableau 4 technique manuelle**

## Prélèvement

- Fait partie de l'examen
- Réalisé par ponction veineuse franche
- Sur citrate trisodique 0,109M (9 volumes de sang pour 1 volume d'anticoagulant)
- Centrifugation sans délai pendant 15 mn à 2500 g

## Mode opératoire

Le TCA du malade doit être comparé à celui d'un plasma témoin

Dans un tube à hémolyse placé au BM à 37 °C	
Plasma témoin, (contrôle, malades)	0,1 ml
Céphaline + activateur	0.1 ml
Mélanger et laisser incuber exactement 3 mn	
En déclenchant un chronomètre, ajouter le CaCl <sub>2</sub> pré incubé à 37°C	
Mélanger, surveiller l'apparition du caillot par le crochet ou par retournements successifs du tube à réaction.	0,1 ml
Saisir le moment de la formation du caillot en arrêtant le chronomètre.	
- Vérifier que les résultats pour les contrôles se situent dans les fourchettes fournies par le fabricant.	

## Expression des résultats

- Le TCA patient est exprimé en secondes, il est donné par rapport au TCA témoin.
- Les valeurs normales TCA patient/ TCA témoin  $\leq 1.2$
- Un allongement de TCA si TCA patient/ TCA témoin  $>1.2$

## Variations pathologiques

- Déficiences constitutionnelles ou acquises en facteurs de la voie endogène.
- CIVD.
- Anticoagulant circulant.
- Syndrome des antiphospholipides.
- Héparinothérapie curative (*HNF*  $\Rightarrow$  TCA patient doit être de 2 à 3 fois celui du témoin).

# **TRANSFUSION**

Loi N° 03-94 relative au don, au prélèvement et à l'utilisation du sang humain.

## Rappel

Le système ABO qui a été le premier décrit demeure le plus important en transfusion sanguine. Les antigènes A et B sont greffés sur un hydrocarbure précurseur portant l'antigène H. L'Ag H est présent sur tous les GR à l'exception de ceux des sujets hh dits phénotypes Bombay.

Les anticorps anti A et anti B qui n'apparaissent qu'au cours des premiers 6 mois de la vie ne seront pas recherchés dans le groupage sanguin du nouveau né.

Le Système Rh est le plus important système après ABO en transfusion sanguine en raison de l'immunisation potentielle des sujets ne portant pas un antigène Rh lorsqu'ils sont transfusés par des hématies positives pour ce marqueur.

Dans la nomenclature de Fisher et Race qui utilise la terminologie CDE, on retient 5 marqueurs D, C, E, c, e. Actuellement, on parle de RH1, 2, 3, 4,5 respectivement.

Pour le groupage standard il est suffisant de tester la présence ou l'absence de l'antigène Rh1 et de classer les sujets RH1 ou RH-1.

Au Maroc 90% des sujets sont RH1.

# Groupage standard ABO, RH1

## Principe

Le groupage ABO se fait par deux épreuves concordantes entre elles :

- Epreuve globulaire consiste à rechercher, par technique d'agglutination, les antigènes à la surface des GR en utilisant des sérums tests antiA, antiB et antiAB.
- Epreuve sérique consiste à rechercher, les agglutinines dirigées contre les antigènes absents du GR, à l'aide de GR tests A1, B et O.

Le groupage standard RH consiste à rechercher, par technique d'agglutination, l'antigène RH1 à la surface du GR en utilisant le sérum test antiRH1.

## Indications

- Donneur de sang
- Receveur d'une transfusion
- Bilan prénatal
- Bilan d'une allo-immunisation fœto-maternelle

## Prélèvement

Obtenu par ponction veineuse sur un flacon anticoagulé.

## Matériel et consommable

Techniques sur plaque, en gel

Matériel et accessoires	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"><li>- Verre à pied contenant de l'eau physiologique</li><li>- Plaque de réaction d'agglutination</li><li>- Tubes à hémolyse en verre</li><li>- Cristalliseur contenant de l'eau javellisée</li><li>- Pipettes Pasteur...</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Sérums tests antiA, antiB, antiAB</li><li>- GR tests A1, B, O</li><li>- Eau physiologique</li><li>- Sérum test antiRH1 (<b>anticorps monoclonal</b>)</li></ul>

## Technique

Sur une même plaque, réaliser les deux épreuves globulaire et sérique (ABO) et l'épreuve globulaire (RH1).

Epreuve globulaire :

Sur la plaque, placer successivement une goutte de chaque sérum test, Ajouter à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte d'une suspension globulaire de l'échantillon dilué en eau physiologique sur chacune des gouttes des sérums tests,

Mélanger à l'aide d'un agitateur qui sera chaque fois nettoyé les gouttes de sérum test et les GR,

Constater l'agglutination immédiate des GR.

Epreuve sérique:

Sur la même plaque, constater selon le même mode opératoire, l'agglutination des GR tests avec le sérum.

Recherche de l'antigène RH1 :

Sur la même plaque, les GR sont testés avec le sérum test antiRH1.

## Interprétation des résultats

L'étudiant doit respecter l'ordre des réactions antigène anticorps du tableau.

### Epreuve globulaire

Technique				Résultat
AntiB	AntiA	AntiAB	Anti RH1	Groupe
<b>+ Une goutte de suspension de GR à grouper</b>				
-	+	+	+	<b>A RH1</b>
-	+	+	-	<b>A RH-1</b>
+	-	+	+	<b>B RH1</b>
+	-	+	-	<b>B RH-1</b>
+	+	+	+	<b>AB RH1</b>
+	+	+	-	<b>AB RH-1</b>
-	-	-	+	<b>O RH1</b>
-	-	-	-	<b>O RH-1</b>

### Epreuve sérique

Technique			Résultat
GR test A1	GR test B	GR test O	Groupe
<b>+ 1 goutte de plasma du sujet à grouper</b>			
-	+	-	<b>A</b>
+	-	-	<b>B</b>
-	-	-	<b>AB</b>
+	+	-	<b>O</b>

Le sujet RH1 ou -1 donneur ou receveur d'une transfusion est phénotypé en routine pour le système Rh et pour l'antigène KEL1 du système Kell.

Une détermination devrait être accomplie deux fois par deux techniciens.

Une carte de groupe sanguin ne devrait être délivrée qu'après deux déterminations pratiquées sur deux prélèvements différents.