

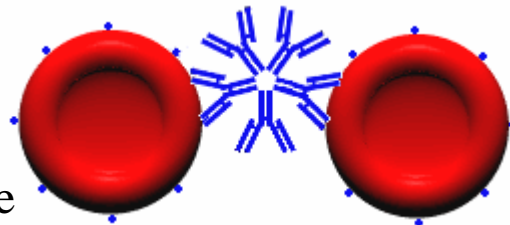
Une discipline aux confins de l'hématologie et de l'immunologie : elle implique la médecine, la biologie, la bio-industrie et la **sociologie** ; elle repose sur **l'éthique**.

Consiste à administrer le sang ou l'un de ses composants provenant d'un ou plusieurs sujets appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs ».

## transfusion sanguine



Permet à un malade de recevoir du sang en toute sécurité.



contrôler soigneusement que le sang est compatible avec celui d'un donneur approprié.

déterminer le groupe sanguin ou le type de sang du donneur et du receveur

## **Chapitre 3 : Les techniques analytiques de laboratoire médical relevant de la science transfusionnelle.**

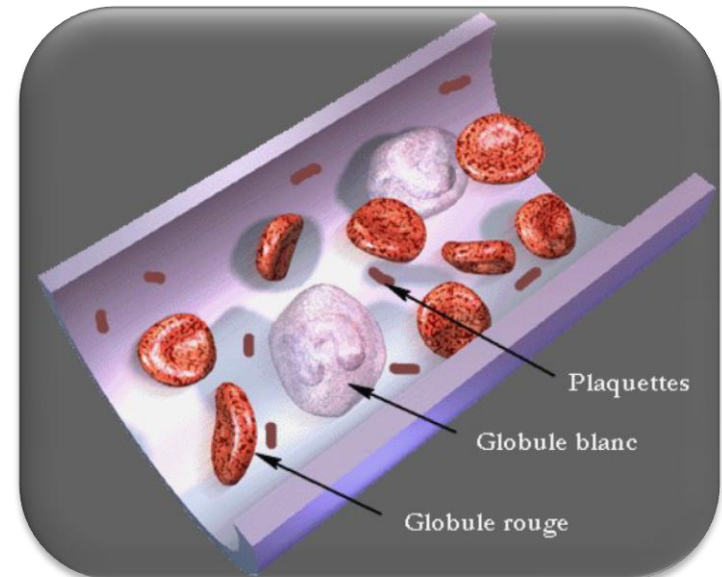
**I. La composition du sang**



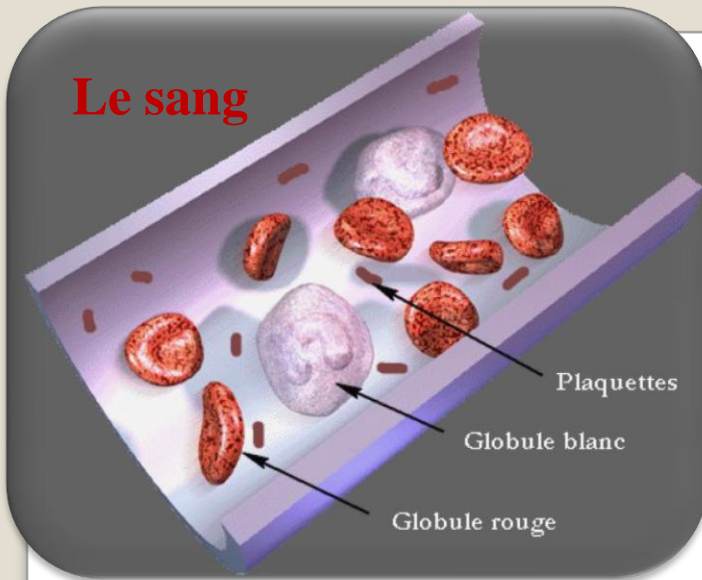
**II. Le système ABO et le rhésus**

**III. Techniques de détermination du groupe sanguin**

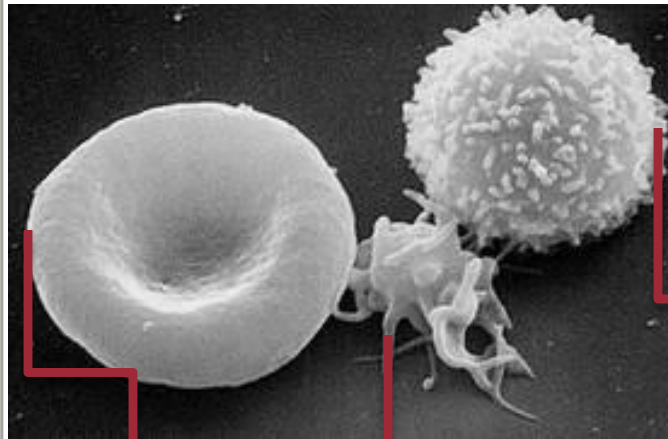
**IV. La recherche d'anticorps irréguliers**



## Le sang



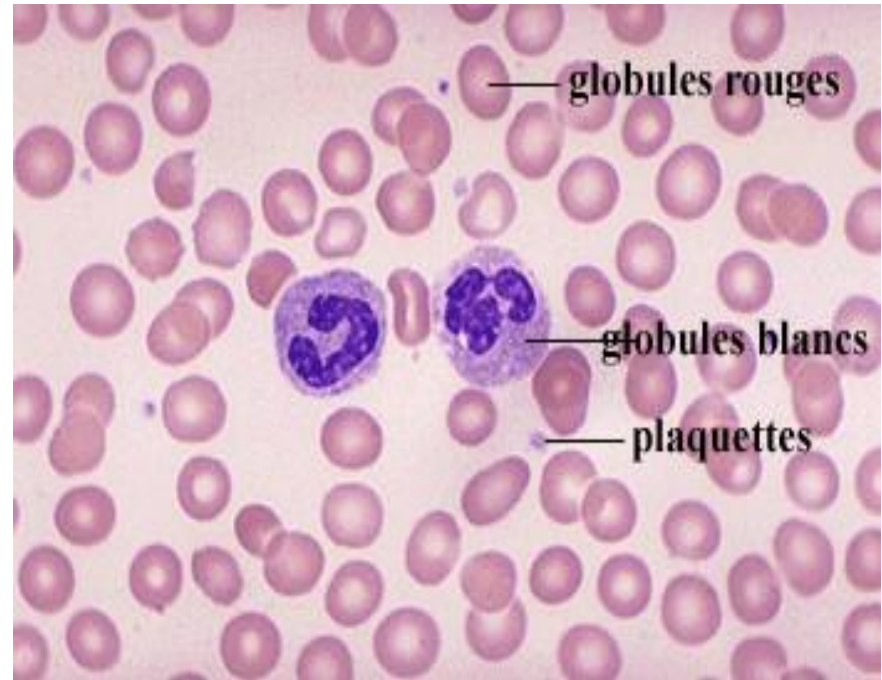
- 8% du poids corporelle
- Un liquide de structure tissulaire,
- Une suspension concentrée,
- Composé de cellules sanguines (les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes) baignant dans un liquide (le plasma) contenant des petites molécules électrolytiques et des macromolécules.
- Sa couleur varie selon le degré d'oxygénation du rouge rutilant (sang oxygéné) au rouge foncé à noir (sang désoxygéné)



les globules  
rouges

les plaquettes

les globules  
blancs



## Plasma

- Un liquide jaunâtre translucide, visqueux, en solution saline de pH 7.2.
- Composé de 91,5% d'eau, 7% de protéines (fibrogène, albumine, globuline..), 1,5% de divers éléments (sucre, nutriments, hormones, gaz dissous...).
- Le plasma permet au sang d'être liquide et de transporter le CO<sub>2</sub> dissous des organes au poumon.

## Globules rouge (Hématie/ érythrocyte)

- Des petites cellules (7 micromètres) en forme de disque aplati (épaisseur 2 micromètres) dont les faces sont concaves, produits par la moelle osseuse.
- Dépourvus de noyau et d'organites cellulaires: c'est essentiellement un sac rempli par un pigment de couleur rouge, *l'hémoglobine*.
- 4500000 à 5000000/mm<sup>3</sup>.

## Globules blancs/ leucocytes

- Possèdent un noyau
- beaucoup moins nombreux que les globules rouges (entre 5000 et 10 000/microlitre de sang) soit 700 fois moins.
- >10 000 = leucocytose : état pathologique (par exemple une infection); <5 000 = leucopénie : une faible résistance immunitaire.

## Plaquette/ thrombocyte

- Des débris cellulaires de 2 à 4 micromètre, dépourvus de noyau et résultant de l'éclatement d'énormes cellules de la moelle osseuse rouge, appelées mégacaryocytes.
- Leur nombre varie entre 250,000 et 400,000/microlitre de sang.

## Plasma

- Le transport de substances nutritives pour les cellules de l'organismes.
- Le transport d'éléments coordinateurs des diverses fonctions de l'organisme (les hormones)
- Le transport des substances des déchets vers les organes épurateurs
- Le transport d'éléments de défense

## Globules rouge (Hématie/ érythrocyte)

- durée de vie 120 jours
- Transport du O<sub>2</sub> entre les poumon et les cellules des tissus
- Transformation du CO<sub>2</sub> en HCO<sub>3</sub>

## Globules blancs/ leucocytes

- Protègent le corps contre l'invasion de microorganismes ou de produits chimiques étrangers et enlèvent les débris provenant des cellules lésées ou mortes (système immunitaire).
- 3 grands groupes: polynucléaires, lymphocytes et monocytes

## Plaquette/ thrombocyte

- Leur durée de vie est très brève, entre 5 et 10 jours
- Jouent un rôle extrêmement important au niveau de la coagulation sanguine. Une diminution du nombre de plaquettes entraîne des problèmes de coagulation du sang.

## Chapitre 3 : Les techniques analytiques de laboratoire médical relevant de la science transfusionnelle.

I. La composition du sang

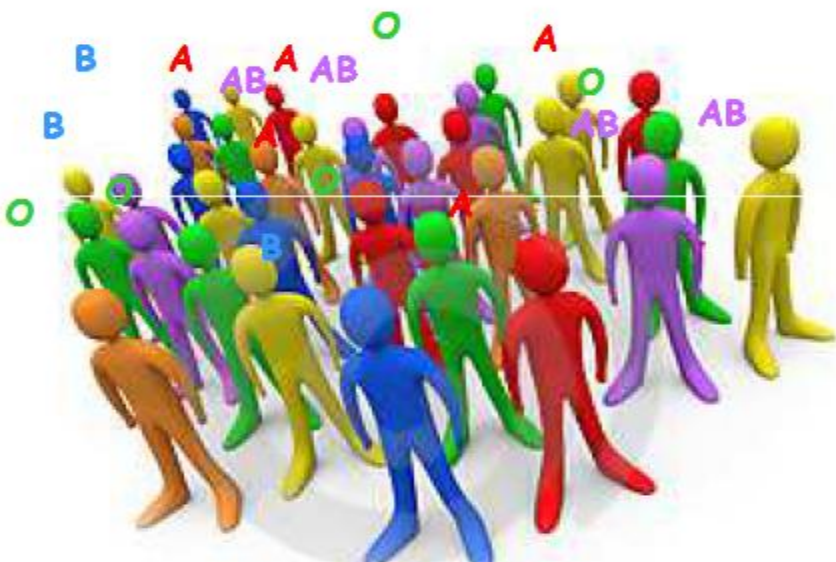
II. Le système ABO et le rhésus

III. Techniques de détermination du groupe sanguin

IV. La recherche d'anticorps irréguliers : test de Coombs

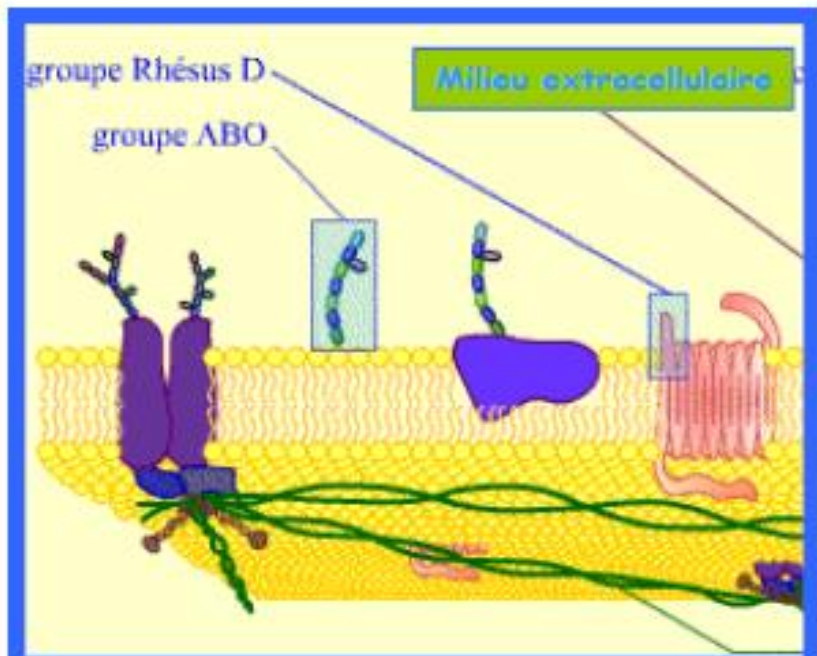
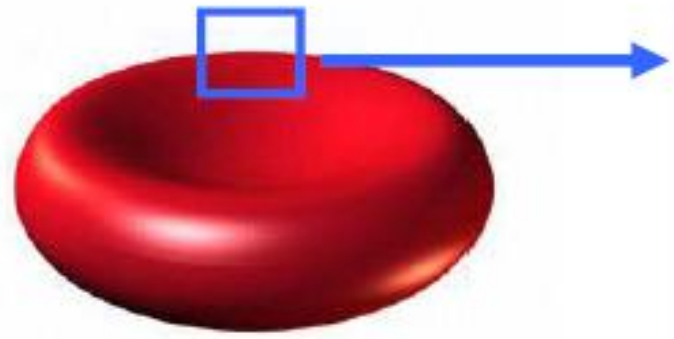






Un groupe sanguin est un ensemble de propriétés antigéniques du sang. Il permet de classer les individus, afin de permettre des transfusions dans des conditions optimales de compatibilité.

Différentes cellules sanguines portent des antigènes et il y a donc plusieurs sortes de groupes sanguins « érythrocytaires »



← Bi-couche de phospholipides membranaires

Les groupes érythrocytaires sont des systèmes d'antigènes situés à la surface des globules rouges. Les plus importants en pratique sont les systèmes ABO et Rhésus.

# Le système ABO

A

B

AB

O

Hématies

Antigène A

Antigène B

Antigènes A et B

Pas d'antigène



Anticorps anti B

Anticorps anti A

Pas d'Anticorps

Anticorps anti A et anti B

Plasma  
Sérum

Anticorps innés 'naturels'



Anti B



Anti A

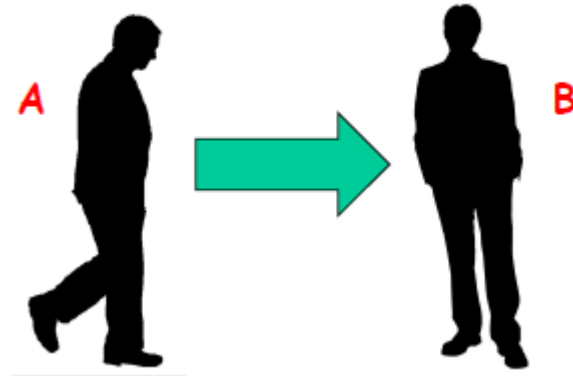
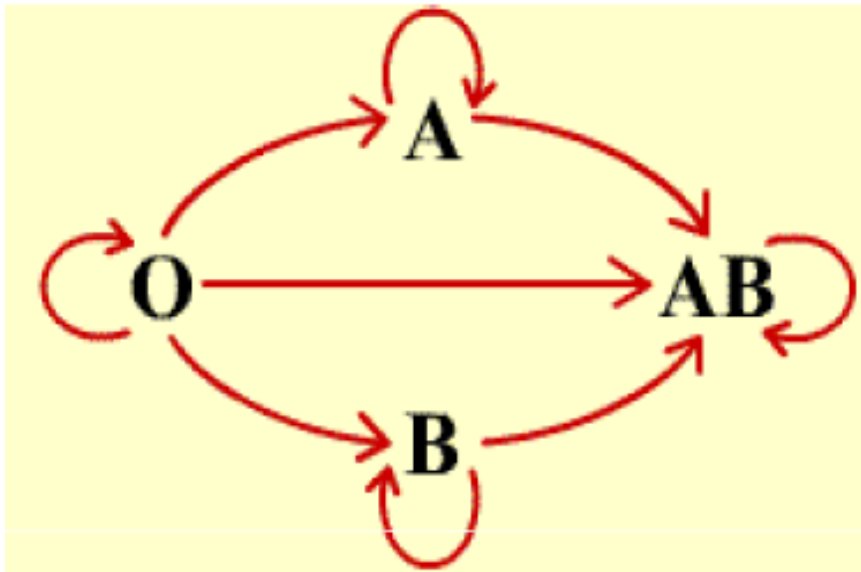
NONE.

Pas d'agglutinines

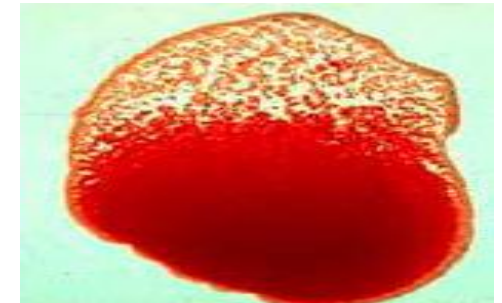


Anti A + Anti B





**Premier temps** : erreur de transfusion donc agglutination des hématies de A (antigène A) par les agglutinines de B (Agglutinines anti A)



**Deuxième temps** : l'organisme du receveur va développer une réaction immunitaire contre les agglutinogènes A du donneur. Il va fabriquer des anticorps anti A différents des agglutinines anti A qu'il possède déjà : **Les hémolysines (anti A) === allo-immunisation.** Apparus après stimulation



comporte 5 antigènes  
auxquels on donne les  
noms de **D**, C, E, c, e.

Le système rhésus

est le second système  
antigénique attaché aux  
globules rouges.



**Les sujets Rhésus positif sont ceux qui possèdent l'antigène D**

**Antigènes** : protéine D transmembranaire portée uniquement par les GR  
85% des sujets sont D+ Rhésus+  
15% des sujets sont D- Rhésus-

**Anticorps** : spécifiques **irréguliers** 'non naturels' produits seulement après  
une immunisation : **Transfusion non iso-rhésus**  
**Grossesse femme Rh- enfant Rh+**

**Si transfusion ou grossesse +  
2<sup>ème</sup> Transfusion ou grossesse**



**synthèse d' anti D  
Hémolyse**

comporte 5 antigènes  
auxquels on donne les  
noms de **D**, **C**, **E**, **c**, **e**.

Le système rhésus

est le second système  
antigénique attaché aux  
globules rouges.

L'antigène **C** et **E** (très immunogène) se rencontrent surtout chez les sujets  
Rh + et **c** et **e** chez les Rh -

Il ne faut jamais apporter d'antigènes que le receveur ne possède pas déjà.

Les anticorps recherchés pour le système Rhésus sont donc l'anti-D (le  
résultat est souvent associé au groupe ABO : A+, O-), l'anti-C, l'anti-c, l'anti-  
E, l'anti-e

Seule cette partie des antigènes de ce système est recherchée, le système  
Rhésus comportant **54 antigènes**

## Le système KELL

Les sujets qui possèdent l'antigène Kell (**K**) sont dits **K +** (9%), les autres sont dits **K -** (91%).

L'antigène **K** est très immunogène (moins que **D** mais plus que **E**).

## Le système DUFFY, KIDD et LEWIS

**Pour le système DUFFY**, les antigènes sont propres à l'hématie : **Fy a+**, **a-** et **Fy b+** et **b-**, les anticorps sont immuns.

**Fy a** est immunogène, il est donc recherché s'il y a une demande de sang phénotypé.

**Pour KIDD**, l'antigène **Jk +** est immunogène, il est donc recherché s'il y a une demande de sang phénotypé.

**Pour LEWIS**, Les antigènes ne sont pas synthétisés par les GR mais absorbés par leur membrane. Il existe 3 antigènes dans ce système : **Le** (a, b, x).

Une femme enceinte souffre d'un déséquilibre membranaire elle est donc généralement **Le (a-, b-)**. les anticorps sont naturels, il y a donc un danger dès la première transfusion.

## **Chapitre 3 : Les techniques analytiques de laboratoire médical relevant de la science transfusionnelle.**

**I. La composition du sang**

**II. Le système ABO et le rhésus**

**III. Techniques de détermination du groupe sanguin**

**IV. La recherche d'anticorps irréguliers : test de Coombs**





## Le groupage sanguin ABO

```
graph TD; A[Le groupage sanguin ABO] --> B[l'épreuve globulaire (Beth-Vincent)]; A --> C[l'épreuve plasmatique (Simonin-Michon)]; B --> D[mettre en évidence les antigènes du système ABO à la surface des globules rouges du patient]; C --> E[mettre en évidence les anticorps du système ABO contenus dans le plasma du patient]; D --> F[L'absence ou la présence d'agglutination permet d'identifier l'antigène globulaire]; E --> G[L'absence ou la présence d'agglutination permet d'identifier les anticorps naturels du plasma];
```

l'épreuve globulaire (Beth-Vincent)

mettre en évidence les antigènes du système ABO à la surface des globules rouges du patient

L'absence ou la présence d'agglutination permet d'identifier l'antigène globulaire

l'épreuve plasmatique (Simonin-Michon)

mettre en évidence les anticorps du système ABO contenus dans le plasma du patient

L'absence ou la présence d'agglutination permet d'identifier les anticorps naturels du plasma



## Test de Beth-Vincent

Sang à tester + sérums

Anti A      Anti B      Anti AB

|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

## Test de Simonin

Sérum du Sang à tester + hématies

cellules A      cellules B      cellules O

|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

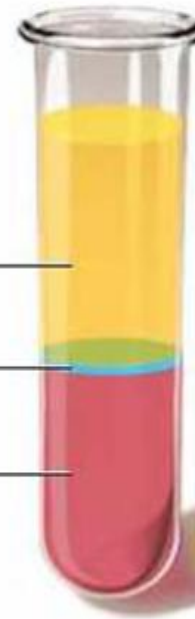
## Séparation des différents composés du sang

Sang veineux  
+  
Anticoagulant



**Centrifugation**

Plasma (55 %)  
Globules blancs  
(<1 %)  
Globules rouges  
(45 %)



Dosages,  
analyses...

**NB** : on peut également obtenir du plasma par sédimentation en laissant reposer du sang additionné d'anticoagulant quelques heures

## Le concentré érythrocytaire/globulaire (CE/CGR)

Pauvre en électrolytes et en facteur de coagulation.

- centrifugation à froid (entre 1 et 6°C T° de Stockage) du sang total à 5000g/5 min.
- CE correspond à la couche sédimentaire (séparé du plasma par le buffy coat).

## Plasma

Comprend tous les facteurs de la coagulation et différentes protéines sanguines circulantes.

- le surnageant jaune de la centrifugation à froid. La séparation et le stockage se fait dans les 6h qui suivent le prélèvement à -18°C.

## Plasma enrichi en plaquettes

Protocole de centrifugation doux de sang frais à 2000g pendant 2min 30sec à T° ambiante (20-24°C). Le stockage se fait à la même T° pendant 5 jours avec un système d'agitation continu.

## Concentré plaquettaire

Obtenu à partir du Plasma enrichi en plaquettes par une centrifugation à 5000g/5min entre 22-25°C. le stockage se fait après une heure de stabilisation à la même T° pendant 5 jours avec un système d'agitation continu.

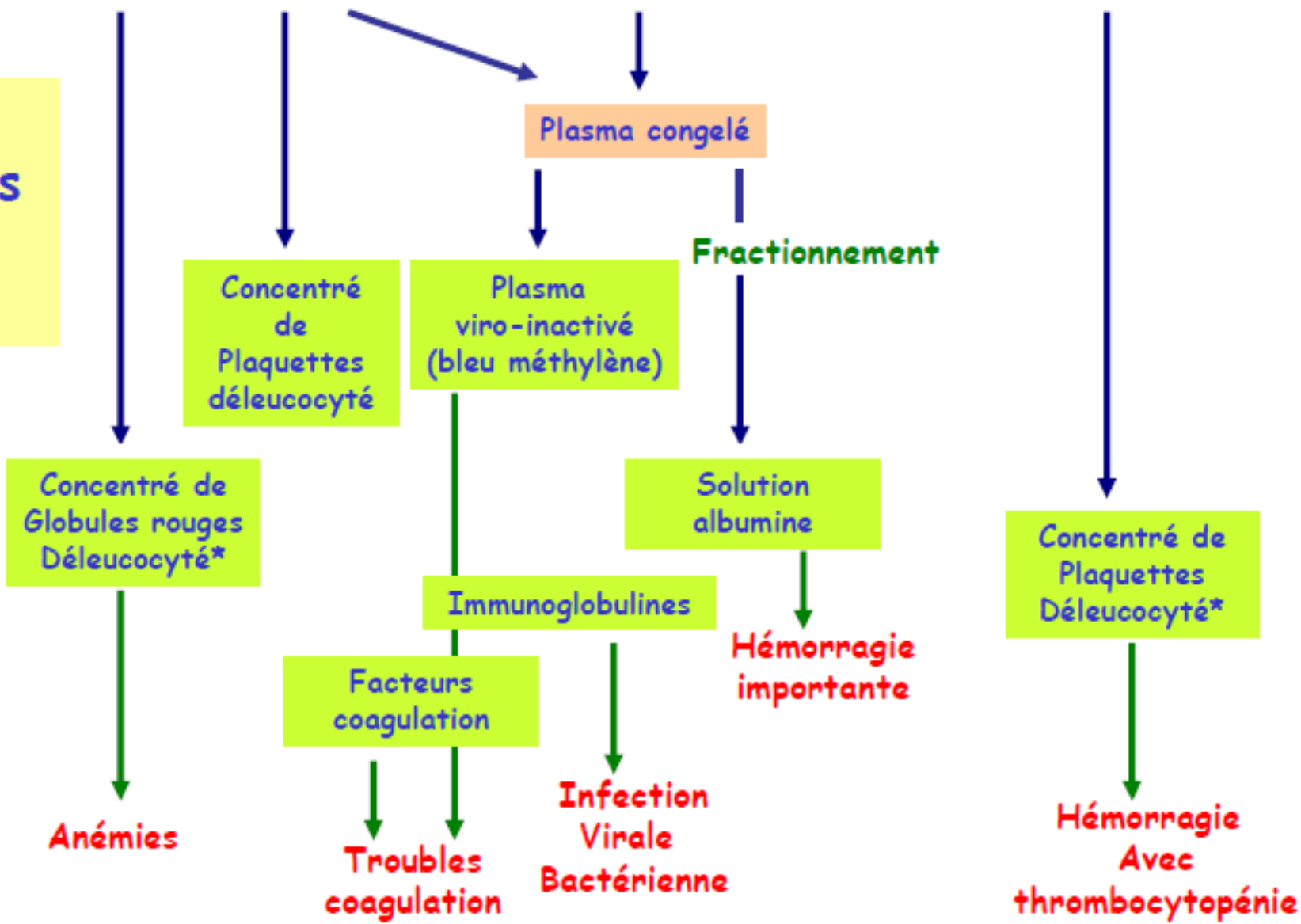
Il est conseiller d'utiliser des poches en plastique spécifiques permettant d'optimiser les échange gazeux et la diffusion d' O2

**Don de Sang**

**Don de Plasma**

**Don de Plaquettes**

**Les Produits Du Sang**



\*Destiné à limiter les réactions transfusionnelles liées aux anticorps anti-leucocytes ou anti-plaquettaires présents chez le receveur, phénomène fréquent chez les polytransfusés

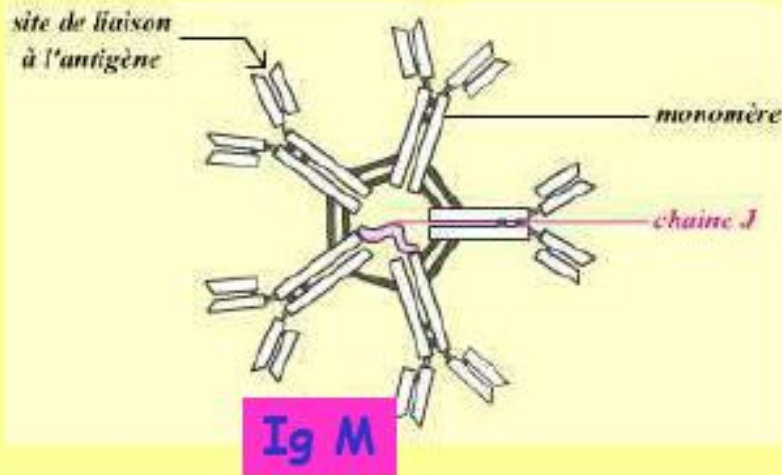


## **Chapitre 3 : Les techniques analytiques de laboratoire médical relevant de la science transfusionnelle.**

- I. La composition du sang**
- II. Le système ABO et le rhésus**
- III. Techniques de détermination du groupe sanguin**
- IV. La recherche d'anticorps irréguliers RAI : test de Coombs**



## Description des agglutinines



Immunoglobulines pentamériques

Anticorps naturels

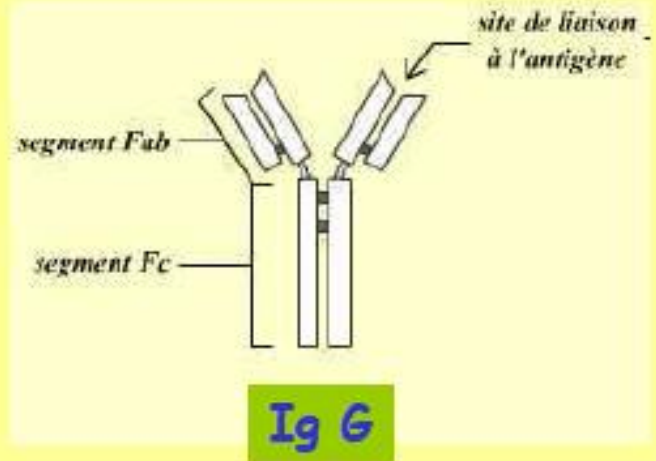
Régulier (toujours présent en absence d'Ag spécifique)

Ne traversent pas la barrière foeto-placentaire.

Agglutinent les hématies même à froid

→ Agglutinines

## Description des hémolysines



Immunoglobulines monomériques

Anticorps immuns (transfusion, grossesse...)

Irrégulier (pas toujours présent en absence d'Ag spécifique)

Traversent la barrière foeto-placentaire

Lysent les hématies (pores) à 37°C

→ Hémolysines

## La recherche d'anticorps irréguliers (RAI)

Cette analyse permet d'assurer la sécurité transfusionnelle ou le suivi immuno-hématologique des femmes enceintes.

rechercher les anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires, hors système ABO.

on utilise

le dépistage

l'identification

Ces Ac sont présents dans la phase plasmatique du patient

Allo-Ac

Auto-Ac



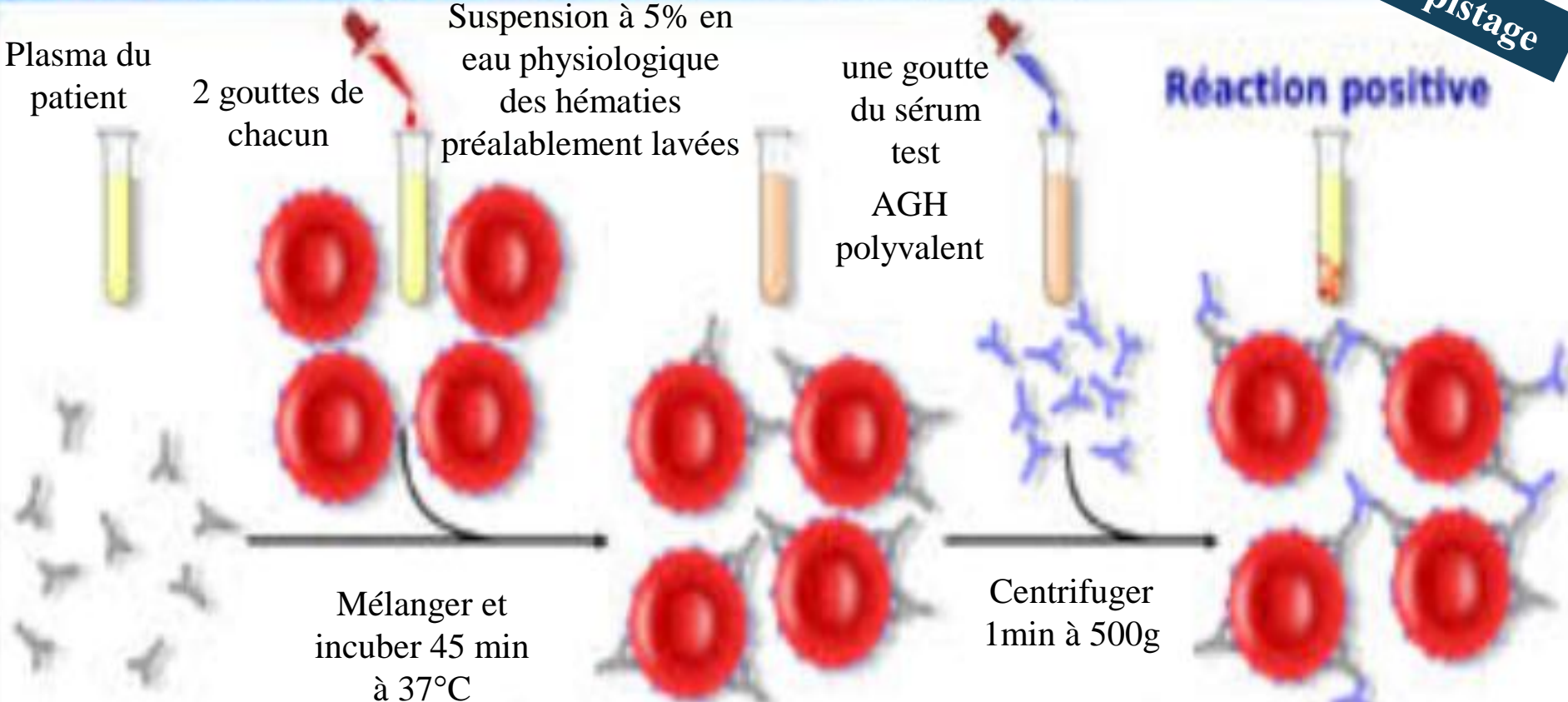
des gammes hématies de groupe O de phénotypes connus

Présentent l'ensemble des Ag potentiellement dangereux en transfusion sanguine

Anti-globulines humain (AGH)  
**Sérum de coombs**

**Test de Coombs Indirect**

# Test de Coombs indirect / Test indirect à l'antiglobuline



Les globules rouges (du groupe O) sont sensibilisés par les AcI (Anti-D, Anti-K, Anti-E...) éventuels présents dans le sérum du patient

Lavez 3 fois à l'eau physiologique

Les Ig non fixés aux Ag erythrocytaires sont éliminés, Le culot est repris

Lire l'agglutination macroscopiquement ou sous microscope après étalement sur une lame

## Test de Coombs Indirect

Dépistage

La présence d'une agglutination avec une ou plusieurs séries d'hématies indique la présence d'une ou plusieurs AcI dans le sérum du patients

Identification

lorsque le dépistage est positif ou lorsqu'on souhaite faire des recherches supplémentaires à la suite d'un **conflit immunologique** (maladies hémolytiques du nouveau-né, réaction hémolytique suite à une transfusion).

Sur au moins 10 séries d'hématies de groupe O avec des caractéristiques particulières définies par la réglementation (Panel de dépistage)  
-Même Principe du dépistage-

Important

**Appelé indirect car :**

On passe par la sensibilisation puis par le test d'agglutination

**Se fait sur :**

Des hématies connues avec un sérum d'Ac inconnu (cas échéant) ou hématies inconnues et des sérums d'Ac connu (déterminer le phénotype du groupe sanguin),

Ou les deux inconnus (test de compatibilité)

**NB**

Dans les 2 derniers cas il faut passer par le **test de Coombs direct**



## Test de Coombs Direct

La présence d'anticorps spécifiques, fixés *in vivo*, sur les hématies en provoquant l'agglutination de ces dernières par un sérum contenant l'Anti-globuline humaine reconnues.

Ce test permet de diagnostiquer une anémie hémolytique auto-immune, De faire un bilan foëto-maternel ou une réaction transfusionnelle.

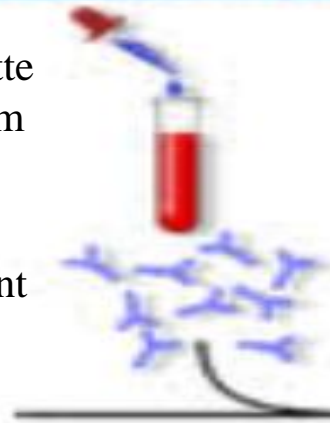
Si le test CD est négatif on procède au test de CI

### Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline

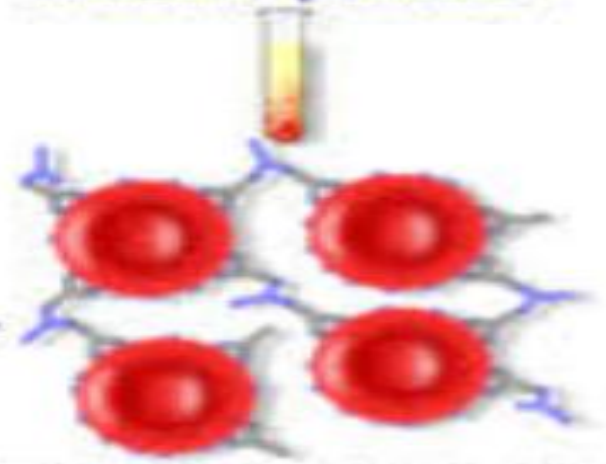


une goutte  
du sérum  
test  
AGH  
polyvalent

Lavage des GR  
sensibilisés *In vivo*



Réaction positive



# Cas clinique

**Direct Coombs test**

**Indirect Coombs test**

**Rh<sup>-</sup> mother pregnant with Rh<sup>+</sup> child**



**Washed fetal red cells coated with maternal antibody**

**Maternal serum**



**Add Rh<sup>+</sup> red cells and wash out unbound antibody**



**Add rabbit anti-human antibody**

**Add rabbit anti-human antibody**

**Agglutination**

### **Question du Chapitre 3:**

**Montrer la différence de la structure biochimique des antigènes de surface  
du système ABO**