

DCEM 1 HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Liste des enseignants :

**Pr Gargouri J, Pr Menif H, Pr Ben Amor I, Dr Rekik T
et Dr Louati N**

Centre Régional de Transfusion Sanguine de Sfax

Année universitaire 2024-2025

SOMMAIRE

I.	LES GROUPES SANGUINS ABO ET ASSOCIES	2
II.	SYSTEME RHESUS (RH) ET COLLEGUES OU SYSTEMES IMMUNOGENES.....	13
III.	LES GROUPES SANGUINS LEUCOCYTAIRES, PLAQUETTAIRES ET PROTEIQUES.....	21
IV.	LA REACTION DE COOMBS OU TEST A L'ANTIGLOBULINE	25
V.	LA RECHERCHE D'AGGLUTININES IRREGULIERES (RAI) = RECHERCHE D'ANTICORPS IRREGULIERS ANTI- ERYTHROCYTAIRES.....	29
VI.	LES PRODUITS SANGUINS LABILES : préparation, conservation et indications	Erreur ! Signet non défini.
VII.	L'EPREUVE DE COMPATIBILITE AU LABORATOIRE (EDCL).....	45
VIII.	L'EPREUVE ULTIME AU LIT DU MALADE (EULM).....	49
IX.	L'HEMATOPOIESE	54
X.	LES ELEMENTS FIGURES DU SANG.....	65
XI.	LE FER : METABOLISME ET EXPLORATION	77
XII.	COBALAMINES ET FOLATES : Physiopathologie, métabolisme et exploration.....	85
XIII.	PHYSIOLOGIE DU GLOBULE ROUGE	98
XIV.	PHYSIOPATHOLOGIE DES ANEMIES.....	109
XV.	EXPLORATION DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE.....	118
XVI.	EXPLORATION DE LA COAGULATION PLASMATIQUE.....	124
XVII.	EXPLORATION DE LA FIBRINOLYSE	131
XVIII.	LES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES	135

LES GROUPES SANGUINS ABO ET ASSOCIES

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	2
1. GROUPES SANGUNS : DEFINITIONS.....	3
2. INTRODUCTION.....	4
3. IMMUNOLOGIE.....	5
4. BIOCHMIE.....	6
5. GENETIQUE	6
6. PARTICULARITES DU SYSTEME ABO	7
7. LES REGLES DE COMPATIBILITE ABO	8
7.1. En cas de transfusion de concentrés de globules rouges	8
7.2. En cas de transfusion de plasma frais congelé	8
7.3. En cas de transfusion de produits plaquettaires ou cryoprécipité	9
7.4. Entorses à la règle	9
8. LES ASSOCIES DU SYSTEME ABO	9
8.1. Le système Hh (cf. supra)	9
8.2. Le système Lewis	9
8.3. Les antigènes I et i.....	9
8.4. SYSTEME P	9
8.5. SYSTÈME LUTHERAN	9
8.6. LES ANTIGENES M, N, S et s.....	10
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	11

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Définir un système de groupe sanguin
2. Expliquer les caractéristiques biochimiques, génétiques, immunologiques de la répartition cellulaire des systèmes ABO
3. Expliquer les caractéristiques biochimiques, génétiques, immunologiques de la répartition cellulaire des systèmes Rhésus y compris le D faible et partiel
4. Expliquer l'intérêt immuno-hématologique des sous-groupes A1 et A2
5. Décrire les caractéristiques immunologiques et l'intérêt immuno-hématologique des systèmes apparentés aux systèmes ABO et Rhésus
6. Préciser les règles transfusionnelles en fonction du produit sanguin labile transfusé : concentré de globules rouges, produits plasmatiques
7. Préciser l'implication du système ABO en transSOMMAIREtation d'organe et greffe de tissus
8. Préciser les particularités du système ABO chez le nouveau-né
9. Décrire les caractéristiques immunologiques et l'intérêt immuno-hématologique des systèmes associés au système ABO

1. GROUPES SANGUNS : DEFINITIONS

Les groupes sanguins (GS) se répartissent en groupes sanguins érythrocytaires, leucocytaires, plaquettaires et protéiques.

Les GS érythrocytaires se répartissent en systèmes.

Un système de GS : est constitué d'un ensemble d'**allo-antigènes** de la membrane du globule rouge **génétiquement induits** et **indépendants** les uns des autres, pouvant induire des **anticorps** spécifiques. A nos jours, on compte plus 340 Ag érythrocytaires répartis en plus que 20 systèmes. Les systèmes de GS étudiés sont ceux très importants en transfusion sanguine. Les autres sont sans impact clinique. Les systèmes de GS sont définis par leurs caractéristiques génétiques, immunologiques et biochimiques. Exp : en fonction de la nature biochimique de leurs épitopes, on distingue :

- **Le système ABO et associés** : Hh, I, P dont les déterminants sont de nature glucidique. Le système ABO est impliqué en clinique par ses **anticorps naturels réguliers et hémolytiques**.
- **Le système Rhésus et collègues** : Rh, MNS, Lutheran, Kell, Duffy... dont les déterminants sont de nature peptidique. Ces systèmes sont impliqués en clinique par leur **pouvoir immunogène**.
- Autres systèmes érythrocytaires

Par ailleurs, il existe des systèmes exclusivement de GS (Exp : Rhésus, Kell, Kidd) et d'autres à la fois sanguins et tissulaires, alors considérés comme des antigènes d'histocompatibilité à respecter à chaque fois qu'ils sont exprimés par un organe à greffer (Exp : système ABO et ces associés).

Un allo-antigène ou un antigène : est un motif antigénique appartenant à l'espèce humaine, caractérisé par une variabilité interindividuelle. Il est génétiquement induit comme produit direct du gène ou comme produits indirect par des enzymes génétiquement déterminées. La transmission est généralement indépendante, mais certains gènes sont liés. En immunohématologie, un antigène est aussi caractérisé par son pouvoir immunogène, c-à-d la production d'un anticorps. Les plus immunogènes sont A, B et RH1.

Les anticorps naturels : « semblent » préexister à toute stimulation antigénique. Il s'agit habituellement d'IgM capables d'activer le complément et donc d'induire une hémolyse aigue intravasculaire. Exp : anti-A, anti-B , etc

Les Anticorps naturels réguliers : sont constants chez les personnes dépourvues de l'antigène. Correspondent aux antigènes ubiquitaires répartis dans l'environnement (Bactéries de la flore intestinale, vaccin....), Exp : anti-A, anti-B...

Les anticorps naturels irréguliers : sont inconstants, Exp : anti-Lewis

Les anticorps immuns : apparaissent suite à une stimulation antigénique : transfusionnelle, obstétricale, ou suite à une greffe ou transSOMMAIREtation. Il s'agit le plus souvent d'IgG et sont toujours irréguliers c-à-d inconstants.

Enfin, il existe plusieurs nomenclatures des GS, généralement du domaine du spécialiste. Dans la nomenclature usuelle, l'antigène porte souvent le nom de la personne/famille du cas indexe (exp : Lewis, Duffy, Scianna...) ou celui du 1^{er} découvreur (exp : Ag T et Tn). La nomenclature alpha numérique des antigènes de GS est, quant à elle, adaptée aux systèmes informatiques.

2. INTRODUCTION

La découverte du système de GS ABO par Landsteiner en 1900 (prix Nobel en 1930) a permis le développement de la thérapeutique transfusionnelle.

Son importance primordiale tient de la présence **d'anticorps naturels, réguliers et hémolyants** correspondants aux antigènes **absents** à la surface du globule rouge et **impose** le respect de la **compatibilité** ABO en transfusion sanguine.

Sa distribution tissulaire est large, ce qui impose le respect de la compatibilité ABO lors des transSOMMAIREtations.

Le système ABO est défini par la présence, à la fois :

- des antigènes A et/ou B sur la membrane du globule rouge
- et des anticorps naturels et réguliers anti-A et/ou anti-B sériques correspondant à l'antigène absent.

Les phénotypes ABO courants sont donnés par le tableau 1.

Tableau 1 : Les phénotypes ABO courants

Groupe sanguin (Phénotype)	Antigène (membrane du globule rouge)	Anticorps (sérum)	Génotype	Fréquence Tunisie (%)	Fréquence France (%)
A	A	Anti-B	AA ou AO	32	45
B	B	Anti-A	BB ou BO	17	9
O	ni A, ni B	Anti-A et anti-B	OO	46	43
AB	A et B	Aucun	AB	5	2

Le système H comprend l'antigène H de grande fréquence, précurseur des antigènes A et B.

Intérêt : La pratique du groupage ABO doit obligatoirement comporter deux épreuves (Schéma 1) :

- l'épreuve globulaire ou épreuve de de Beth-Vincent : qui consiste à déterminer les antigènes globulaire à l'aide de sérums tests anti-A et anti-B
- l'épreuve sérique ou épreuve de Simonin : qui consiste à déterminer des ou des anticorps sériques naturels à l'aide d'hématies tests A et B.

(Schéma 1)

NB : Exigences réglementaires pour la validation d'un GS ABO (circulaire 04/23 relative à la sécurité transfusionnelle) :

- concordance des deux épreuves sérique et globulaire.
- pratique du GS sur 2 échantillons par deux techniciens différents qui effectuent, chacun, les deux épreuves globulaire et sérique avec 2 réactifs différents.

La double détermination permet d'éviter les erreurs ABO (erreur de prélèvement, d'identification, de technique, de transcription...) qui peuvent être fatales.

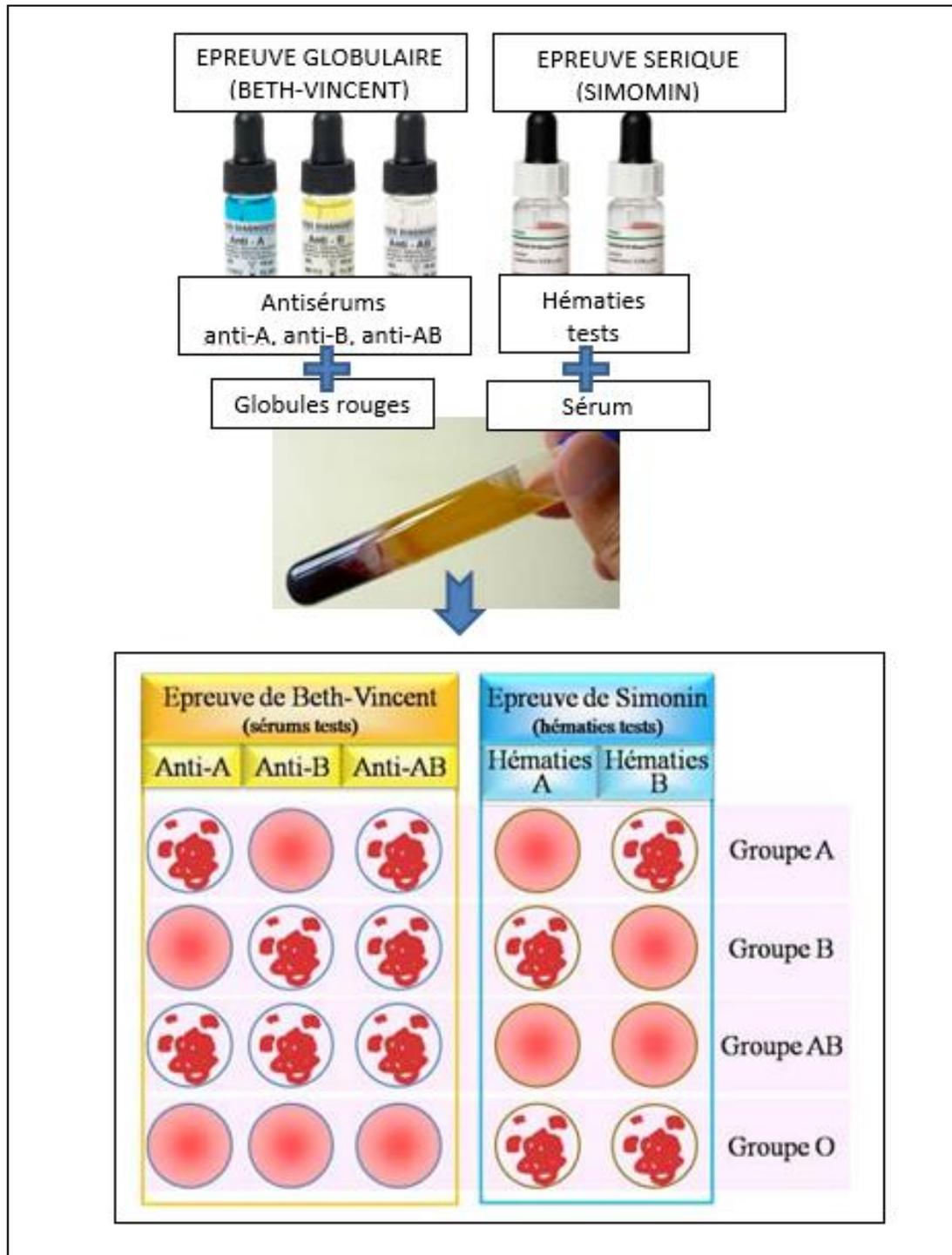


Schéma 1 : Pratique des GS ABO

3. IMMUNOLOGIE

Les anticorps anti-A et anti-B sont :

- **naturels** : existent en dehors de toute immunisation transfusionnelle ou obstétricale
- **réguliers** : constants chez tous les individus
- de nature **IgM** : surtout actif à froid (entre + 4°C et +22 °C)
- apparaissent entre 6 et 12 **mois de vie** → épreuve sérique sans valeur chez le nouveau-né. Le GS chez le nouveau-né ne sera validé qu'au-delà de 1 an.
- **agglutinant** : en solution saline

- et ne **traversent pas la barrière placentaire** (IgM)

Intérêt : Les anticorps naturels et réguliers anti-A et anti-B, sont d'une **importance capitale** en transfusion sanguine car ils sont capables d'induire une hémolyse intravasculaire par **activation complète du complément (IgM)** jusqu'au complexe d'attaque membranaire en cas de transfusion **incompatible**.

4. BIOCHIMIE

Les antigènes A, B et H sont :

- de nature glucidique
- formés par l'addition spécifique et séquentielle de glucides sur le substrat correspondant grâce à des enzymes, les glycosyl-transférases (Tableau 2)
- portés par des glycoprotéines ou des glycolipides membranaires.

Les glucides immunodominants spécifiques des antigènes A, B et H ainsi que les glycosyl-transférases correspondantes sont donnés le tableau 2.

Tableau 2 : Glucides spécifiques des antigènes A, B et H, et glycosyl-transférases et substrats correspondants

Antigène	Glucide immunodominant	Glycosyl-transférase	Substrat
A	N-acetylgalactosamine Gal.N.Ac	N-acetylgalactosamyl-transférase	H
B	Galactose	Galactosyl-transférase	H
H	Fucose	Fucosyl-transférase	Disaccharide

Les antigènes A et B sont ubiquitaires, ils sont :

- **présents** : au niveau des cellules sanguines (hématies, plaquettes, leucocytes), des endothéliums vasculaires (++) et des humeurs (salive, tractus génito-urinaire, respiratoire, larmes et lait maternel).
- **absents** : de la cornée, os et cellules nerveuses.

Intérêt : Les antigènes ABO sont considérés comme des antigènes d'histocompatibilité en greffe d'organes et transSOMMAIREtation. Afin d'éviter le rejet du greffon, la compatibilité ABO est indispensable dans les greffes rénale, hépatique et cardiaque. La compatibilité n'est pas obligatoire dans les greffes de cornée, peau et de cellules souches hématopoïétiques.

5. GENETIQUE

Les antigènes A et B sont les produits indirects des gènes, élaborés sous l'action synergique et séquentielle de glycosyl-transférases qui sont les produits primaires des gènes.

Deux systèmes di-alléliques, de transmission mendélienne, codent pour la synthèse des transférases (schéma 1) :

- Le locus Hh, sur le chromosome 19, comprend les allèles H et h. L'allèle H code pour une fucosyl-transférase qui ajoute un fucose sur le disaccharide de base formant l'antigène H, lui-même précurseur des sucres immunodominants des antigènes A et B. L'allèle h est amorphe non fonctionnel.
- Le locus ABO, sur le chromosome 9, comprend les allèles A, B et O.

Les allèles A et B codent pour les transférases correspondantes aux gènes A et B permettent de transférer les sucres immuno-dominants spécifiques sur la substance H (Schéma 2). Ainsi, un individu de phénotype A est génétiquement soit A/A soit A/O. Il en est de même pour les phénotypes B. Les phénotypes AB sont A/B (Tableau 1) ou exceptionnellement cis AB (cf. infra).

L'allèle O est un allèle silencieux du fait d'une délétion importante produisant une enzyme défectueuse. Son expression en double dose (O/O) produit le phénotype O où les antigènes A et B sont absents laissant place à une large expression de l'antigène H à la surface membranaire.

Les allèles A et B sont co-dominants l'allèle O.

NB : La présence en double dose de l'allèle h détermine l'exceptionnel phénotype Bombay (h/h). N'exprimant pas la substance H, les sucres immuno-dominants A et B ne peuvent être fixés (Schéma 2) même s'ils sont normalement codés, hérités et transmis et à la descendance. Les individus **Bombays** ne doivent pas être considérés à tort comme GS O (H+) car ils ne peuvent être transfusés que par du sang Bombay du fait de la présence d'un anti-H **naturel, régulier, hémolysant** constamment dangereux.

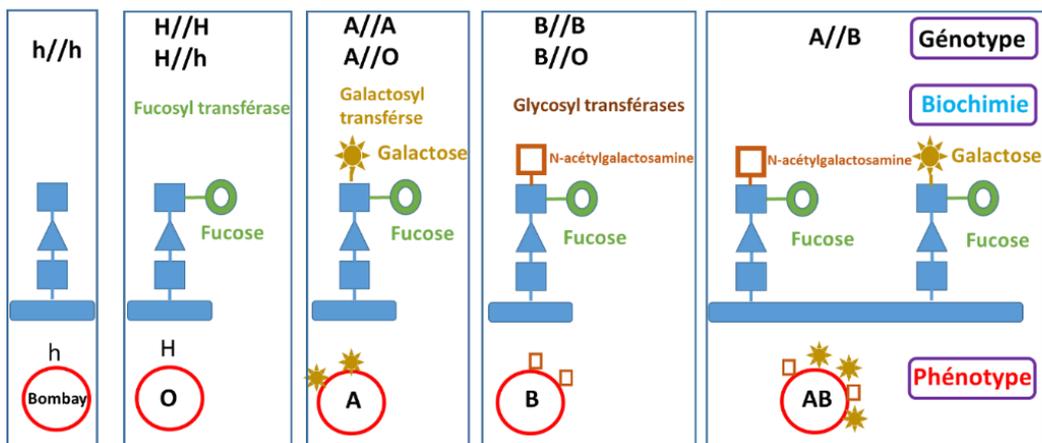


Schéma 2 : Génotypes, biochimie et phénotypes ABO

6. PARTICULARITES DU SYSTEME ABO

a. Les anticorps immuns ou hémolysines

Les hémolysines anti-A et/ou rarement anti-B sont des anticorps **immuns irréguliers** (5 à 10 %) qui apparaissent suite à une stimulation antigénique par :

- Grossesse ABO incompatible : mère O, enfant A ou B
- Transfusions de concentrés plaquettaires
- Hétéroimmunisation : vaccination, sérothérapie, infection

Il s'agit d'IgG hémolysantes par activation complète du complément.

Les produits plasmatiques (plasma frais congelé, concentrés plaquettaires, Cryoprécipités) en contiennent plus que les concentrés de globules rouges (25 mL).

Intérêt :

- En transfusion sanguine : la présence d'hémolysines chez le donneur O définit le **donneur universel dangereux**. La recherche des hémolysines est systématique dans les laboratoires de qualification biologique du don. La présence d'hémolysine peut conduire à la destruction des produits sanguins, dans le cas contraire, il sera mentionné sur le produit sanguin qu'il est à transfuser uniquement en **iso-groupe**.
- En obstétrique : les hémolysines sont capables de traverser la barrière foeto-maternelle (IgG) et d'induire la maladie hémolytique du nouveau-né.

b. Les phénotypes A1 et A2

Les GS A comportent deux sous-groupes différents sur les SOMMAIRES quantitatif et qualitatif :

- Phénotype A1 (gène A1) = 80 % de A avec 1 à 2 millions de copies membranaires avec des sucres terminaux plus longs et plus ramifiés que A2.
- A2 (gène A2) = 20 % des A avec 500 000 copies membranaires avec persistance de l'antigène H et possibilité de d'un anticorps anti-A1 naturel irrégulier (2% des A et 20 % des AB)

Par le passé, la découverte d'anti-A1 imposait leur respect en transfusion sanguine, mais actuellement, ils sont considérés sans incidence transfusionnelle.

c. Les phénotypes A et B faibles et autres

Les phénotypes A faibles ont une réactivité inférieure à celle de A2 voire absente, fréquente dans les groupes AB. Leur identification est du domaine du spécialiste. La présence d'un anticorps anti-A sérique est possible et généralement sans incidence transfusionnelle. Les phénotypes B faibles sont beaucoup moins fréquents.

Les GS B acquis sont exceptionnels et sont attribués à une transformation en B secondaire à une pathologie infectieuse ou cancéreuse

Les GS cis AB portent exceptionnellement les deux allèles A et B sur un seul et même bras d'un seul chromosome. Si les gènes et antigènes A et/ou B peuvent être hérités et transmis à la descendance, ils ne peuvent être exprimés à la surface membranaire. Cette particularité, rends les GS ABO inefficaces dans l'exclusion de paternité.

7. LES REGLES DE COMPATIBILITE ABO

La règle diffère selon le produit sanguin labile transfusé.

7.1. En cas de transfusion de concentrés de globules rouges

Le respect de la compatibilité ABO en transfusion sanguine est impératif et **impose le respect des anticorps du receveur**. Les anticorps du donneur sont neutralisés par les substances ABO endothéliales et solubles du receveur.

NE JAMAIS TRANSFUSER DE GLOBULES ROUGES DONT LES ANTIGENES CORRESPONDENT A L'ANTICORPS PRESENT CHEZ LE RECEVEUR (Schéma 3).

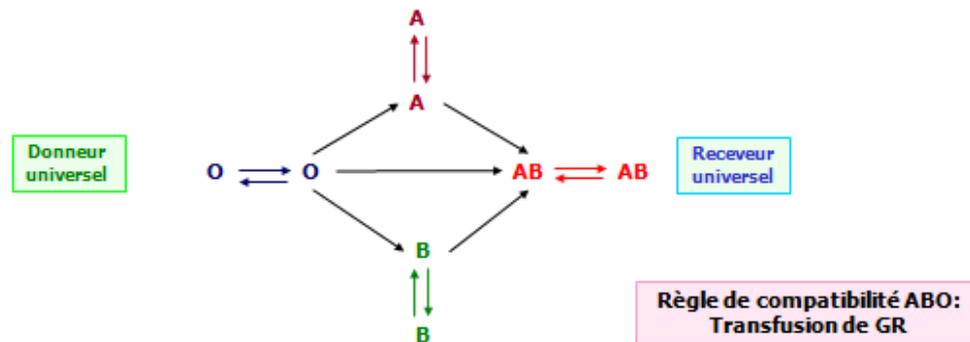


Schéma 3 : Règles de compatibilité de concentrés de globules rouges

L'idéal est de transfuser en iso-groupe, sinon transfuser en compatible. Le donneur O est un donneur universel et le patient AB un receveur universel.

7.2. En cas de transfusion de plasma frais congelé

Les règles de compatibilité sont inversées et ne sont pas aussi strictes que pour les concentrés de globules rouges.

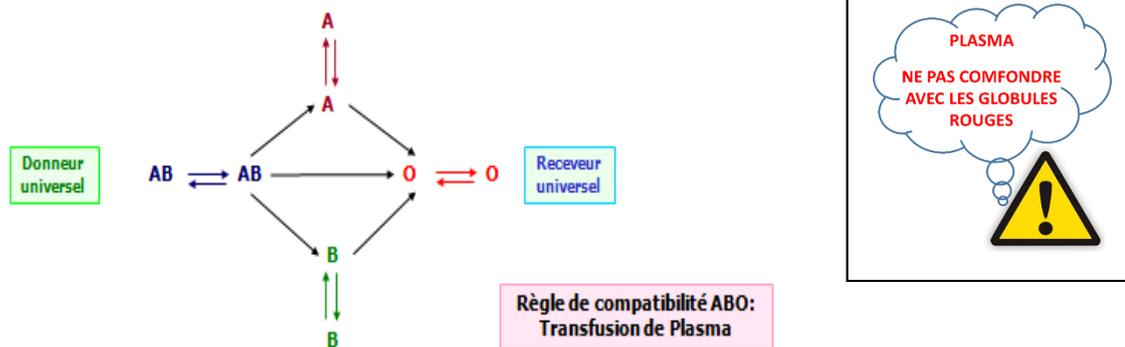


Schéma 4 : Règles de compatibilité du plasma frais congelé

7.3. En cas de transfusion de produits plaquettaires ou cryoprécipité

La compatibilité ABO n'est pas obligatoire. Elle le devient en cas de mauvais rendement plaquettaire post-transfusionnel.

7.4. Entorses à la règle

- Le GS « O dangereux » : qui en plus des anti-A et anti-B naturels possèdent des hémolysines anti-A et/ou B (Cf. supra). Le sang est de ces donneurs est à transfuser uniquement en iso-groupe (patients O).

- Transfusion massive (> 4 concentrés de globules rouges et/ou 4 plasmas frais congelés) : où la capacité de dilution et d'adsorption des anticorps du produit sanguin transfusé par les antigènes solubles et endothéliaux est dépassée imposant une **transfusion iso-groupes**. Les transfusions chez l'enfant et le nouveau-né sont toujours considérées massives.

8. LES ASSOCIÉS DU SYSTÈME ABO

On appelle associés du système ABO, les systèmes Hh, Lewis, Ii, P, Luthéran, et MNSs.

8.1. Le système Hh (cf. supra)

8.2. Le système Lewis

Il existe deux allèles Le et le sur le chromosome 19 qui secrètent des substances Lea et Leb secondairement absorbées sur les globules rouges à l'origine de 3 phénotypes : Le (a+b-), Le (a-b+) et Le (a-b-)

Les Ac du système Lewis sont le plus souvent naturels (IgM) et réguliers et de ce fait rarement significatifs en transfusion et sans incidence pour la maladie hémolytique du nouveau-né. Les antigènes sont absents des hématies fœtales.

8.3. Les antigènes I et i

L'antigène I est exprimé chez l'adulte et i chez le nouveau-né. Ils font partie des précurseurs des substances A, B et H.

Les anti-I et i sont des agglutinines froides souvent responsables d'anémies hémolytiques auto-immunes.

8.4. SYSTÈME P

L'absence exceptionnelle des antigènes P, P1 et Pk engendre des anticorps anti P1, Anti-P-P1, Anti-P-Pk-P1 naturels et réguliers et hémolysants.

8.5. SYSTÈME LUTHERAN

Les antigènes correspondent à deux allèles Lu^a et Lu^b et 3 phénotypes : Lu(a-b+) >90 %, Lu(a+b+) et Lu(a+b-).

Les anticorps sont de faibles titres naturels ou immuns avec des incidents transfusionnels ou maladie hémolytique du nouveau-né mineurs.

8.6. LES ANTIGENES M, N, S et s

Les antigènes M (MNS1) et N (MNS2) sont antithétiques, codés par 2 allèles du chromosome 4. Les anticorps sont rares, souvent froids (naturels et irréguliers) peu impliqués en transfusion.

Les antigènes S (MNS3) et s (MNS4) sont antithétiques codés par 2 allèles liés à M et N. Les anticorps sont actifs à chaud d'où une certaine importance transfusionnelle et obstétricale (MHNN).

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

- 1- De quel groupe sanguin le donneur universel peut-il recevoir du CGR?
 - A. AB
 - B. O
 - C. B
 - D. A

- 2- Une personne est de groupe A-, elle peut recevoir une transfusion de concentré de globules rouge de groupe :
 - E. O-
 - F. O+
 - G. AB-
 - H. B+
 - I. A-

- 3- Une personne est de groupe B-, elle peut recevoir une transfusion de plasma frais congelé de groupe :
 - J. O-
 - K. O+
 - L. AB-
 - M. B-
 - N. A-

- 4- **Les anticorps naturels et réguliers du système ABO :**
 - A. sont de type IgM
 - B. sont des hémolysines
 - C. peuvent être responsables de maladie hémolytique du nouveau-né
 - D. sont dangereux sur le plan transfusionnel
 - E. sont présents dès la naissance

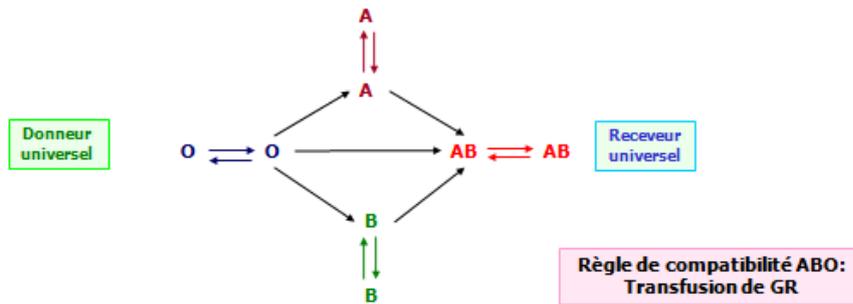
Réponses :

- QCM 1 : B
QCM 2 : A E
QCM 3 : C D
QCM 4 : A D

Questions à réponses courtes

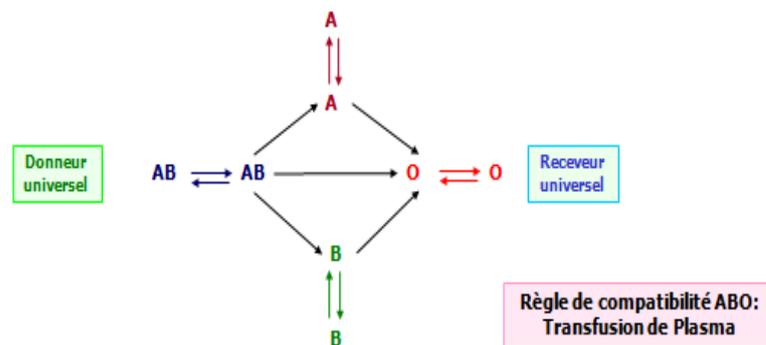
Instruction1 : Précisez les règles de compatibilité à respecter en cas de transfusion de produits érythrocytaires.

Réponse attendue : La règle est de ne jamais transfuser des GR correspondant à (aux)l'anticorps naturel(s) et régulier(s) présent(s) dans le sérum du receveur.



Instruction 2 : Précisez la règle de compatibilité à respecter en cas de transfusion de plasma frais congelé

Réponse attendue : La règle est de ne pas apporter les Ac correspondant à un Ag présent sur les GR du receveur.



Instruction 3 : Quels sont les 2 risques engendrés par la présence des anticorps immuns anti-A et/ou anti-B (les hémolysines).

Réponse attendue : Risque transfusionnel (réaction hémolytique)

Risque de maladie hémolytique du nouveau-né

SYSTEME RHESUS (RH) ET COLLEGUES OU SYSTEMES IMMUNOGENES

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	13
1. INTRODUCTION	14
2. LE SYSTEME RHESUS	14
2.1. Le Rhésus Standard : phénotypes et gènes	14
2.2. Le Rhésus complet	14
3. LES COLLEGUES DE RHESUS : LES AUTRES SYSTEMES IMMUNOGENES	18
4. AUTRES : LES ANTIGENES PUBLICS ET PRIVES	19
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	20

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Expliquer les caractéristiques, biochimiques, génétiques, immunologiques, de répartition cellulaire du système rhésus (y compris le D faible et partiel)
2. Décrire les caractéristiques immunologiques et l'intérêt immunohématologique du système Rhésus et collègues
3. Préciser les règles de compatibilité transfusionnelle à respecter lors de la transfusion pour les antigènes du système Rhésus en fonction du produits sanguin transfusé
4. Préciser l'ordre d'immunogénicité des antigènes érythrocytaires
5. Définir un antigène public et un antigène privé

1. INTRODUCTION

Ce sont les systèmes Rhésus, Kell, Duffy et Kidd.

C'est Levine qui, en 1939, a été le premier à décrire la présence, dans le sérum d'une femme venant d'accoucher d'un enfant atteint de maladie hémolytique, d'un anticorps agglutinant les hématies de l'enfant, du père et de 85% des sujets de race blanche mais non celles de la mère.

Ensuite, c'est en 1940 que, Landsteiner donne le nom Rhésus à cet antigène après avoir obtenu un hétéro-anticorps qui agglutine les hématies de macacus Rhésus et de 85% des sujets de race blanche suite à l'injection d'hématies du singe macacus Rhésus à un cobaye.

Il existe plus de 50 antigènes dans le système Rhésus. Cinq sont importants en transfusion clinique du fait de leur fort potentiel immunogène : D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4) et e (RH5). Ils sont localisés sur deux protéines : la protéine RHD portant l'antigène D et la protéine RhCE portant les antigènes C, E, c et e. Leur expression est **restreinte** aux globules rouges.

2. LE SYSTEME RHESUS

2.1. Le Rhésus Standard : phénotypes et gènes

On appelle Rhésus standard l'antigène D (RH1). Les gènes D et d représentent un système génétique bi-allélique de transmission mendélienne. Le gène D code pour l'antigène D, présent chez 85 % des individus de la race blanche et agglutiné par des anticorps anti-D et. Sa délétion aboutit à un gène d, qui en double dose, ne produit aucun antigène. L'antigène D est alors absent des globules rouges non agglutinés par les anticorps anti-D. Les parents RH⁺ ont toujours des enfants RH⁻ et les parents RH⁺ peuvent avoir des enfants RH⁻ (Tableau 1).

Tableau 1 : Rhésus standard : phénotypes, génotypes et fréquence

Phénotype	Génotypes	Fréquence (%) (race blanche)
Rhésus standard		
D positif (Antigène D ⁺)	DD (homzygote) Dd (hétérozygote)	85
D négatif (Antigène D ⁻)	dd (homozygote)	15

2.2. Le Rhésus complet

a. Les antigènes C et E associés à D

Les antigènes C et E sont plus fréquents en présence de l'antigène D (Tableau 2). Les gènes D et CE sont en déséquilibre de liaison (cf. infra). La fréquence d'expression l'antigène C = 70 %, celle de E = 30 %.

Tableau 2 : Expression des antigènes D, C et E

Phénotypes	D	C	E	Fréquence (%) Race blanche
Rh ⁺	+	+ ou -	+ ou -	85
Rh ⁻	-	-	-	15
rh'	-	+	-	1

rh''	-	-	+	0,5
rh' rh''	-	+	+	rarissime

b. Les antigènes c et e antithétiques de C et E

Les antigènes C et c sont antithétiques tout comme E et e. en absence de l'un, l'autre est forcément exprimé en double dose. Ainsi,

- Toute hématie C- est nécessairement c+, toute hématie c- est nécessairement C+
- Toute hématie E- est nécessairement e+, toute hématie e- est nécessairement E+
- En règle, il n'y a pas de réaction négative avec les deux antigènes antithétiques (Exp : Tableau 3).

La fréquence d'expression de l'antigène c = 80 %, celle de e = 90 % (antigène dit public).

Tableau 3 : Antigènes antithétiques C et c

C	c
+	-
-	+
+	+

c. Le rhésus complet : gènes et les allèles

Les antigènes D, C, c E sont codés par deux gènes homologues RHC et RHCE, adjacents localisés sur le chromosome 1. Les loci des 3 couples d'allèles D ou c, C ou c, E ou e sont transmis en bloc haplotypiques lors de la méiose du fait de leur proximité. Chaque individu hérite de 2 haplotypes soit 1 de chaque parent. Etant en déséquilibre de liaison, il existe des haplotypes :

- plus fréquents : DCe, dce et Dce
- plus rares : Dce, dCe et dcE
- Très rares : DCE et dCE

Un phénotype Rhésus est l'expression des antigènes produits par les 2 haplotypes. Un individu peut être homo ou hétérozygote pour un même locus et le phénotype permet de prédire le génotype probable (Tableau 4).

Tableau 4 : Rhésus complet : phénoypes, haplotypes et nomenclatures

Résultats sérologiques	Ficher/Race	Wiener	Rosenfield ISBT / numérique
DCcee	DCE/dce	R1r	RH 1, 2, -3, 4, 5
DCCee	Dce/Dce	R1R1	RH 1, 2, -3, -4, 5
DccEe	DcE/dce	R2r	RH 1, -2, 3, 4, 5
DCcEe	Dce/DcE	R1R2	RH 1, 2, 3, 4, 5
dccee	Dce/dce	rr	RH -1, -2, -3, 4, 5

d. Les variants de D

Il s'agit des antigènes RhD faible ou D^u et de l'antigène D partiel.

L'antigène Rh D faible ou D^u : La diminution de la réactivité de l'antigène D concerne 1 % des individus de race blanche et est due à un déficit **quantitatif** des sites antigéniques génétiquement transmis. Il est généralement observé chez les individus dCe et dcE en fait D^uCe et D^ucE. Cet affaiblissement peut rendre difficile la

détection de l'antigène RhD par les techniques usuelles. Un individu D^{u+} est considéré comme **RhD+**.

Intérêt : application en pratique clinique :

Lors du groupage sanguin : dépistage systématique et obligatoire du D^u par une technique sensible (au moins un test de Coombs indirect) à chaque fois que le RhD est négatif par technique usuelle chez :

1. Les donneurs de sang : en transfusion, le sang de donneur Du⁺ obéit aux règles de transfusion du RhD⁺. Un sang D^{u+} est capable d'immuniser un receveur RhD⁻ même s'il est moins immunogène que le sang RhD⁺. Le D^u n'est pas pratiqué chez les receveurs puisque sans incidence.
 2. Le couple mère Du⁻ et nouveau-né RHD⁺ ou D^{u+} : la prévention de l'alloimmunisation anti-D par les injections de gammaglobulines spécifiques empêchant la maladie hémolytique du nouveau-né qui peut aller jusqu'à compromettre l'avenir obstétrical de la femme.
- **L'antigène Rh D partiel** : est exceptionnel. L'antigène D peut être comparé à une mosaïque de sous-unités toutes présentes chez es individus RhD⁺ et absentes chez ceux RhD⁻. L'antigène D partiel est un déficit **qualitatif** assimilé à un antigène D amputé d'une pièce de sa mosaïque. (Schéma 1). Plusieurs variants sont possibles. L'affaiblissement est possible.



Antigène D+

Antigène D partiel

Schéma 1 : Représentation de l'antigène D partiel

Intérêt : Application en pratique clinique :

1. Les patients RhD partiel sont considérés comme RhD⁻ car ils peuvent s'immuniser contre la partie manquante une fois transfusé par du sang RhD⁺.
2. On parle alors d'alloimmunisation anti-D **paradoxe** chez des individus apparemment D⁺ → suspecter un Rh D partiel et transfuser par du sang RhD⁻.
3. Risque similaire en obstétrique.

e. Les variants de C et c, E et e

Il existe plusieurs variantes de C et c, E et e : Ag Cw, En et E, des antigènes composés et des phénotypes déprimés ou carrément silencieux soit partiellement soit totalement :

- Ni E ni e : DC-/Dc-
- Ni C ni c : D--/D—
- Au maximum : haplotype Rh nul ---/--- : la maladie Rh nul est une anémie hémolytique compensée par anomalie de la membrane (rôle structural des antigènes Rh)

f. Les anticorps du système Rhésus

Les anticorps du système Rhésus sont des anticorps acquis et irréguliers. Ils n'existent pas à l'état naturel sauf pour l'anti-E naturel et irrégulier (intérêt de la RAI pré-transfusionnelle).

→ **Les alloanticorps** sont :

- fréquents
- post-transfusionnels ou par immunisation foeto-maternelle
- des IgG actives à 37°C (ne fixant pas le complément) et donc responsables de d'accidents transfusionnels graves et de maladie hémolytique du nouveau-né.
- Dans l'ordre d'immunogénicité des antigènes du Rhésus complet :
 - o L'antigène D est le plus immunogène, si bien qu'il fait partie intégrante du groupage sanguin.
 - o Suivi par les anti- E, c et e.
- Mis en évidence la recherche des agglutinines irrégulières (RAI) :
 - o Plus facile pour les anti-D, -E, et -C que pour les anti-c et -e.

→ **Les auto-anticorps**

- Responsables d'anémie hémolytique autoimmune.
- Sont des IgG de spécificité anti-rhésus, cette spécificité est sans impact clinique.
 - g. Intérêt** : en clinique transfusionnelle ou obstétricale
- Lors d'une première transfusion/grossesse Rhésus incompatible (Rh D--→ Rh D-), il n'existe pas de risque hémolytique, les anticorps n'étant pas naturel. C'est à la suite que les anticorps se développent et peuvent alors déclencher un accident transfusionnel/maladie hémolytique du nouveau-né lors d'une exposition ultérieure.
- En cas d'alloimmunisation anti-e, trouver du sang e- est difficile (antigène public)

2.3. Le groupage sanguin Rhésus

a. Le groupage Rhésus standard

Le groupage Rh D standard est indissociable du groupage ABO dans tous les pays du monde. Il est uniquement effectué par une **épreuve globulaire**, en milieu albumineux à 37° en présence d'un témoin albumineux pour sa validation (Schéma 3).

Comme le groupage ABO, il est obligatoirement effectué sur 2 prélèvements, 2 déterminations sur chaque prélèvement par 2 techniciens et 2 lots de réactifs.

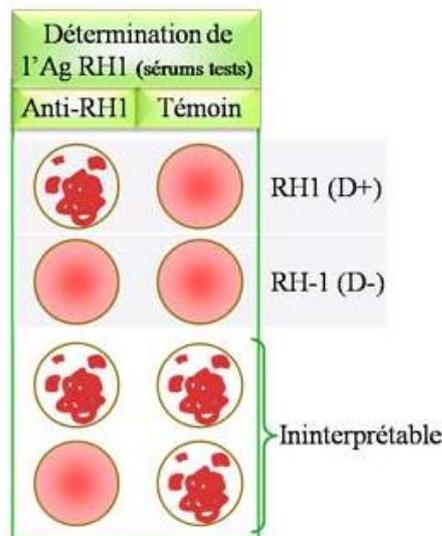


Schéma 3 : pratique du groupage RhD standard

b. La compatibilité Rhésus D standard

Le respect de la compatibilité Rh D est obligatoire. Un individu RHD – est transfusé par du sang Rh D-. Un individu Rh D+ peut être transfusé par du sang Rh D+ ou Rh D-. Cependant, vu la rareté du sang Rh D- il sera réservé aux patients Rh D-.



Schéma

4 : Règles de compatibilité RHD standard

En cas de transfusion de concentrés plaquettaires Rh D incompatibles, une prévention par des immunoglobulines anti-D s'impose chez les fillettes et les femmes en âge de procréation. Celle-ci n'est pas possible dans le cas de transfusion de concentré de globules rouges (quantité d'antigènes Rh D +++).

c. La compatibilité Rhésus complet

- En Tunisie, le respect de la compatibilité des antigènes C, c, E et e est **indiqué** chez les fillettes, les femmes en âge de procréation et les polytransfusés (y compris greffés et transSOMMAIREtés).

3. LES COLLEGUES DE RHESUS : LES AUTRES SYSTEMES IMMUNOGENES

Ces systèmes sont soit bi-alléliques simples, soit plus complexes, comportant un certain nombre d'antigènes. En pratique, si l'on tient compte du risque d'alloimmunisation, on peut ramener chacun d'eux à un couple d'antigènes principaux antithétiques, à l'exception du système MNSs représenté par deux couples MN et Ss.

Le tableau ci-dessous schématise les principaux phénotypes, avec leur fréquence respective, et indique l'antigène essentiellement impliqué en clinique.

Tableau 1 : Principaux systèmes de groupes sanguins immunogènes (En dehors du Système rhésus).

Systeme	Principaux antigènes et phénotypes	Fréquence (%) (France)	Antigènes à rechercher chez les receveurs à risque
Kell	K +	9	K
	K - (kk)	91	
Duffy	Fy (a + b -)	20	Fya
	Fy (a + b +)	45	
	Fy (a - b +)	35	
Kidd	Jk (a + b -)	28	Jka
	Jk (a + b +)	50	
	Jk (a - b +)	22	

L'antigène Kell est le plus immunogène des Ag après l'Ag D. Sa détermination fait partie intégrante du phénotypage Rhésus-Kell. Les Ac sont impliqués en transfusion et dans les formes sévères de la maladie hémolytique du nouveau-né.

L'antigène Fya est un récepteur du Plasmodium vivax donnant un exemple de sélection naturelle dans la race noire où le phénotype Fy (a-b-) représente 70%. L'anti-Fya est le plus fréquent des Ac anti-Fy. Il peut être impliqué en transfusion et en maladie hémolytique du nouveau-né.

L'anti-Jka est particulièrement hémolysant et de détection difficile donnant des réaction post-transfusionnelle et maladie hémolytique du nouveau-né en apparence à anticorps négatif, il est dit perfide et dangereux.

Les différents antigènes responsables d'alloimmunisation transfusionnelle ou foeto-maternelle sont classés dans l'ordre suivant, selon leur pouvoir immunogène (décroissant): **D > K > E > c > Fya > Jka** .

Dans le système MNSs, les antigènes M et N ne sont pas immunogènes. Les anticorps correspondants sont rares, naturels et irréguliers. Les antigènes S et s, bien que peu immunogènes, peuvent être impliqués dans l'immunisation par transfusion ou grossesse. Ainsi **D > K > E > c > Fya > Jka > S > s**.

4. AUTRES : LES ANTIGENES PUBLICS ET PRIVÉS

a. Ag publics (*Vel, Gerbich,...*)

Sont des antigènes de grande fréquence (>90-99 % des individus). Très exceptionnellement, ces antigènes peuvent manquer chez un individu. Ce qui peut entraîner une immunisation post-transfusionnelle ou à l'occasion d'une grossesse.

b. Ag privés

Ces antigènes sont retrouvés chez uniquement quelques individus (<1 %). La conséquence transfusionnelle est quasi-inexistante, mais l'immunisation peut engendrer un blocage obstétrical.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QROC

Instruction 1 : Une transfusion de concentrés de globules rouges (CGR) est indiquée chez un patient dont la carte de groupe sanguin indique qu'il est de groupe RhD partiel. Quel est le groupe RhD du CGR à transfuser.

Réponse attendue : Rh D négatif

Instruction 2 : Une transfusion de concentrés de globules rouges (CGR) est indiquée chez un patient dont la carte de groupe sanguin indique qu'il est de groupe RhD faible. Quel est le groupe RhD du CGR à transfuser.

Réponse attendue : Rh D positif

QUESTIONS A DEVELOPPEMENT COURT (réponses ?)

- 1- Précisez dans l'ordre d'immunogénité les différents antigènes responsables d'allo-immunisation anti-érythrocytaire
- 2- Préciser les indications de la recherche de l'antigène D faible « Du »
- 3- Définir l'Ag D partiel
- 4- Comparer les anticorps ABO et Rhésus

REPONSES :

Instruction 1 : *Réponse attendue : Rh D négatif*

Instruction 2 : *Réponse attendue : Rh D positif*

- 1- D > K > E > c > Fya > Jka > S > s
- 2- Injection des immunoglobuline anti-D pour la prévention de l'alloimmunisation anti-D chez le couple la mère Du- et nouveau-né est RHD+ ou D^u+
- 3- C'est un antigène amputé de l'un de ses épitopes
- 4-

Anticorps ABO	Anticorps Rhésus
Naturels	Réguliers (constants)
Immuns	Irréguliers
IgM	IgG
Traversent la barrière foeto-placentaire	Ne traversent pas la barrière foeto-placentaire
Actifs à froid	Actifs à chaud
Agglutinants	Non agglutinants

LES GROUPES SANGUINS LEUCOCYTAIRES, PLAQUETTAIRES ET PROTEIQUES

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	21
1. LES GROUPES LEUCOCYTAIRES :	22
2. LES GROUPES PLAQUETTAIRES.....	22
3. LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE (CMH) OU HUMAIN LEUKOCYTE ANTIGEN = HLA :	23
4. LES GROUPES PROTEIQUES.....	23
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	24

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Enumérer les groupes sanguins autres qu'érythrocytaires
- 2- Enumérer leur implication en clinique et en transSOMMAIREtation

1. LES GROUPES LEUCOCYTAIRES :

Les neutrophiles portent les systèmes P, I, HLA de classe I et des antigènes spécifiques, les neutrophil antigens ou NA. Ils ne portent pas les antigènes ABH.

Les antigènes NA sont portés par le FcRIII-b (CD16) codé par le chromosome 1. Les anticorps anti-NA sont impliqués dans les :

- Neutropénies néonatales allo immunes
- Neutropénies auto-immunes
- Neutropénies après greffe de moelle osseuse
- Réactions post-transfusionnelles fébriles
- Les TRALI : Transfusion Related Lung Injury

2. LES GROUPES PLAQUETTAIRES

Les antigènes exprimés par les plaquettes humaines sont des antigènes largement répandus : HLA classe I, ABH, Le(a), P, MN et des antigènes spécifiques plaquettaires (HPA : humain platelet antigens) portés par les glycoprotéines plaquettaires.

Les systèmes HPA sont numérotés dans l'ordre de leur découverte rassemblant les 2 allèles de chacun : les plus fréquents =a et les plus rares =b transmis de façon codominante (tableau ci-dessous)

Système	Antigènes	Noms originaux
HPA-1	HPA-1a HPA-1b	Zw ^a , Pl ^{A1} Zw ^b , Pl ^{A2}
HPA-2	HPA-2a HPA-2b	Ko ^b Ko ^a , Sib ^a
HPA-3	HPA-3a HPA-3b	Bak ^a , Lek ^a Bak ^b
HPA-4	HPA-4a HPA-4b	Yuk ^b , Pen ^a Yuk ^a , Pen ^b
HPA-5	HPA-5a HPA-5b HPA-6bw HPA-7bw HPA-8bw HPA-9bw HPA-10bw HPA-11bw HPA-12bw HPA-13bw HPA-14bw	Br ^b , Zav ^b Br ^a , Zav ^a , Hc ^a Ca ^a , Tu ^a Mo ^a Sr ^a Max ^a La ^a Gro ^a Iy ^a Sit ^a Oe ^a
HPA-15	HPA-15a HPA-15b HPA-16bw	Gov ^b Gov ^a Duv ^a

Implications en transfusion : L'anticorps le plus fréquent est l'anti-HPA-1a. Les anticorps anti-HPA sont à l'origine de :

- Thrombopénie néonatale allo-immune par incompatibilité foeto-maternelle : la transfusion de concentrés plaquettaires phénotypés HPA-1a (-) ou maternels lavés permet de traiter le nouveau-né
- Purpura posttransfusionnel ou purpura de Schlmann : aussi bien les plaquettes du donneurs que celles du receveur sont détruites suite à une transfusions de

produits sanguins contenant les plaquettes (concentrés de globules rouges, concentré plaquettaires) donnant une thrombopénie profonde. Les transfusions plaquettaires sont contre-indiquées et le traitement se fait par les échanges transfusionnels.

3. LE COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE (CMH) OU HUMAIN LEUKOCYTE ANTIGEN = HLA :

Le HLA sont caractérisées par son grand polymorphisme, véritable carte d'identité biologique, des liaisons étroites (haplotypes) et une expression codominante. Il existe des le HLA de Classe I et II.

Le HLA Classe I : principaux gènes : HLA-A, B et C, d'expression ubiquitaire :

- forte expression sur lymphocytes, plaquettes et macrophages
- Faible expression sur les hépatocytes
- Expression nulle sur les hématies, système nerveux central, cellules osseuses et cartilagineuses

Le HLA de classe II : gènes : DR, DQ et DP, d'expression restreinte aux cellules présentatrices de l'antigène aux lymphocytes T CD4+ :

- Lymphocytes B
- Cellules dendritiques
- Monocytes/macrophages
- Etc

Application médicales :

- Étude des populations
- Marqueurs génétiques les plus discriminants dans la recherche de paternité : exclusion de paternité ou sa probabilité
- Association/liaison aux maladies
- Application en greffe d'organes et de tissus :
 - Greffe et transSOMMAIREtations d'organes :
 - L'identité doit être maximale pour le succès de la greffe
 - Identité génotypique/phénotypique
 - Dépend de l'organe à greffer
 - Greffe de cellules souches hématopoïétiques :
 - Donneurs hautement compatibles
 - Généralement dans la famille
 - Greffe hépatique : exigence moindre
 - Épreuve de compatibilité avant greffe
- Application en transfusion sanguine :
 - HLA = Ag leuco-plaquettaires
 - Chez les patients transfusés itérativement
 - immunisations anti-HLA très fréquentes → clinique : frissons, fièvre, et possible inefficacité des transfusions
- Moyens d'études : Sérologique / génétique

4. LES GROUPES PROTEIQUES

Il s'agit de marqueurs génétiques sans incidence clinique. Il existe :

- Les systèmes de groupes d'immunoglobulines : Les plus connus sont le système Km pour les chaînes légères K et le système Gm pour les IgG1, IgG2, IgG3
- Autres systèmes de groupe : Il existe aussi un polymorphisme génétique des fractions du complément, de l'haptoglobine, des lipoprotéines, etc

TESTS D'AUTOEVALUATION

Question 1 :

A quel type d'anticorps les inefficacités transfusionnelles plaquettaires sont-elles le plus souvent dues ?

Question 2 :

Enumérer les pathologies causées par des anticorps anti-HPA.

REPONSES

1/ Les anti-HLA de classe I.

2/ Thrombopénie néonatale allo-immune par incompatibilité foeto-maternelle et purpura posttransfusionnel ou purpura de Schlmann

LA REACTION DE COOMBS OU TEST A L'ANTIGLOBULINE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	25
1. INTRODUCTION-PRINCIPE.....	26
2. LES DIFFERENTS TESTS DE COOMBS	26
2.1. Le test de Coombs direct (TCD) = Test Globulaire = Test Direct à l'Antiglobuline (TDA).....	26
2.1. Le test de Coombs indirect = test sérique = Test Indirect à l'Antiglobuline (TIA)	27
3. Conclusion :	27
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	28

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Définir la réaction de Coombs et expliquer son principe.
- 2- Définir le test de Coombs direct
- 3- Définir le teste de Coombs indirect
- 4- Préciser les indications des tests de Coombs directs et indirects.

1. INTRODUCTION-PRINCIPE

C'est une méthode d'agglutination artificielle. Il a été utilisé pour la première fois en 1945 par Coombs et collaborateurs pour détecter des anticorps dits « incomplets ou non agglutinants ». En effet, ces anticorps se fixent à la surface des globules rouges possédant l'antigène correspondant à leur spécificité, sans pour autant entraîner une agglutination. On dit que les globules rouges, ainsi recouverts d'anticorps mais non agglutinés, sont "sensibilisés".

La mise en évidence de cette sensibilisation passe par l'utilisation d'artifices qui permettent soit de réduire la distance inter-globulaire, soit de créer un pont immunologique par un anticorps reconnaissant les fragments Fc des Ig qui sensibilisent les hématies.

C'est ce dernier mécanisme qui a été développé par Coombs et ses collaborateurs en utilisant un anticorps anti-isotypes des immunoglobulines humaines appelé : **antiglobuline humaine**.

2. LES DIFFERENTS TESTS DE COOMBS

Il existe deux types de test de Coombs : direct et indirect

2.1. Le test de Coombs direct (TCD) = Test Globulaire = Test Direct à l'Antiglobuline (TDA)

Elle met en évidence la sensibilisation "in vivo" des globules rouges par un anticorps et/ou le stigmate de son passage : la fraction C3 du complément. Dans ce cas, on va tester les globules rouges du patient avec l'antiglobuline. La sensibilisation in vivo des globules rouges va se manifester par une réaction d'agglutination (figure 1).

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline

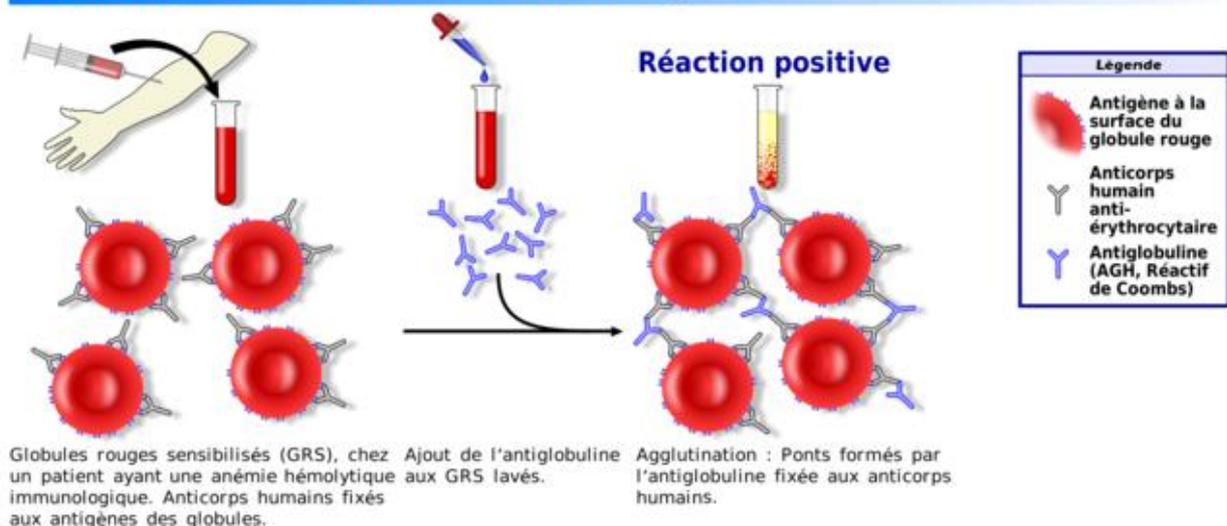


Figure 1 : Réaction de Coombs direct

Le test de Coombs direct est une analyse biologique clé dans l'enquête étiologique d'une anémie hémolytique. Une anémie hémolytique avec un TCD positif permet d'orienter, selon le contexte clinique, vers :

a) la maladie hémolytique du nouveau-né (M.H.N.N) : dans ce cas le TCD permet de démontrer la sensibilisation des globules rouges du nouveau-né par des anticorps anti-érythrocytaires d'origine maternelle ayant traversé la barrière placentaire.

b) l'anémie hémolytique autoimmune : dans ce cas, le TCD va mettre en évidence la sensibilisation des globules rouges des malades, par des auto-anticorps anti-érythrocytaires et/ou des fractions du complément.

c) les anémies hémolytiques immuno-allergiques dus à certains médicaments où les globules rouges sont sensibilisés par des anticorps dirigés contre le médicament en cause (Pénicilline, Rifampicine). Dans ce cas, le test de Coombs n'est positif qu'en présence du médicament.

d) une complication hémolytique post-transfusionnelle : dans ce contexte, le TCD permet de mettre en évidence la fixation sur les globules rouges du donneur, en circulation chez le malade, d'allo-anticorps spécifiques présents dans le sérum du malade.

2.1. Le test de Coombs indirect = test sérique = Test Indirect à l'Antiglobuline (TIA)

Il met en évidence la présence d'anticorps dans un sérum en mettant ce dernier en contact "in vitro" avec les globules rouges et en présence de l'antiglobuline (figure 2)

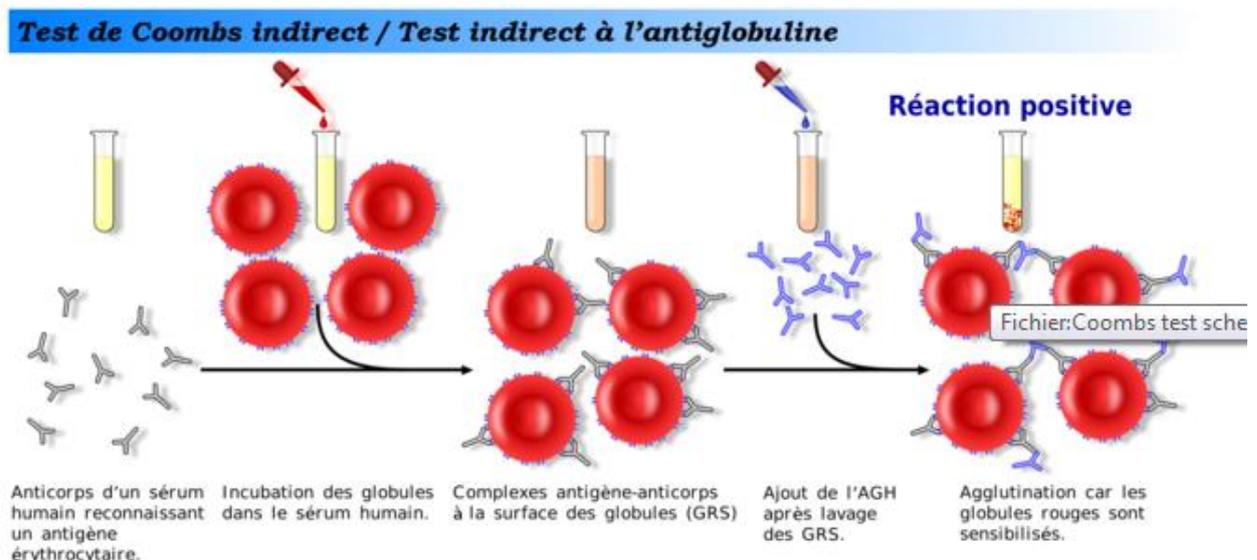


Figure 2 : Réaction de Coombs indirect

Il sera donc utilisée pour :

a) la recherche des anticorps anti-érythrocytaires irréguliers dans le sérum des femmes enceintes ou des malades transfusés ;

b) les épreuves de compatibilité entre le sérum du receveur et les globules rouges du donneur, qui est en fait une recherche d'anticorps anti-érythrocytes personnalisée ;

e) la détermination de certains groupes sanguins (Kell, Duffy, etc..) utilisant des réactifs non agglutinants.

3. Conclusion :

Le test de Coombs est une analyse fondamentale en immunohématologie. Il permet, grâce à ces deux types : direct et indirect, d'orienter le diagnostic étiologique des anémies hémolytiques et d'assurer une sécurité transfusionnelle.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

- 1- La réaction de Coombs :
 - A. Est une technique d'agglutination artificielle
 - B. Utilise comme réactif : l'albumine
 - C. Permet de mettre en évidence des anticorps spontanément agglutinants
 - D. Comporte deux techniques : directe et indirecte
 - E. Est la technique clé pour la réalisation de l'épreuve de compatibilité au laboratoire
- 2- Le test de Coombs direct est indiqué dans :
 - A. Le diagnostic des anémies hémolytiques autoimmunes
 - B. La réalisation de l'épreuve de compatibilité au laboratoire
 - C. La réalisation de la RAI
 - D. Le diagnostic de la maladie hémolytique du nouveau-né
 - E. Le phénotypage érythrocytaire
- 3- Le test de Coombs indirect est indiqué dans :
 - A. Le diagnostic des anémies hémolytiques autoimmunes
 - B. La réalisation de l'épreuve de compatibilité au laboratoire
 - C. La réalisation de la RAI
 - D. Le diagnostic de la maladie hémolytique du nouveau-né
 - E. Le phénotypage érythrocytaire

Réponses :

QCM 1 : A, D, E

QCM 2 : A, D

QCM 3 : B, C, E

QUESTIONS REDACTIONNELLES

- 1- Expliquer la différence entre un anticorps agglutinant et un anticorps non agglutinant.
- 2- Expliquer le principe du test de Coombs
- 3- Définir la réaction de Coombs direct
- 4- Définir la réaction de Coombs indirect
- 5- Préciser les indications de la réaction de Coombs direct
- 6- Préciser les indications de la réaction de Coombs indirect

**LA RECHERCHE D'AGGLUTININES IRREGULIERES (RAI) =
RECHERCHE D'ANTICORPS IRREGULIERS ANTI-ERYTHROCYTAIRES**

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	29
1. Principe	30
2. INDICATIONS DE LA RAI :	30
2.1. Dans un contexte transfusionnel :	30
2.2. Dans un contexte obstétrical :	30
3. RAI DE DÉPISTAGE :	30
4. RAI : IDENTIFICATION :	30
5. CHOISIR LE BON MOMENT SURTOUT CHEZ LE POLYTRANSFUSE.....	31
6. LIMITES DE LA RAI	32
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	33

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Préciser le principe de la recherche des anticorps anti-érythrocytaires (RAI)
- 2- Citer les indications de la RAI
- 3- Préciser les limites de la RAI

1. Principe

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) pour recherche d'anticorps irréguliers ou d'Ac dits incomplets) et un examen clé de l'immunohématologie permettant d'assurer la sécurité immunologique des transfusions et le suivi immunohématologique de la femme enceinte.

Elle consiste à mettre en évidence l'existence éventuelle, dans le sérum ou le plasma du patient, d'un ou plusieurs anticorps anti-érythrocytaires (dirigés contre les antigènes des hématies) au moyen d'une gamme d'hématies de groupe O et de phénotype connu appelées hématies détectrices ou "panel".

Elle comporte deux étapes : une étape de dépistage suivie, en cas de positivité, par une étape d'identification de la spécificité du ou des Ac détectés qui permettra de sélectionner le phénotype du sang à transfuser.

Une importance particulière doit être accordée au prélèvement des échantillons sanguins destinés à la réalisation de la RAI. Ils doivent être identifiés d'une manière précise. Ils doivent porter une étiquette indiquant le nom, prénom, date de naissance, matricule et service d'hospitalisation du receveur et la date du prélèvement.

2. INDICATIONS DE LA RAI :

La RAI est indiquée dans 2 contextes prédisposant à l'alloimmunisation anti-érythrocytaire avec éventuelle formation d'anticorps anti-érythrocytaires : la transfusion et la grossesse

2.1. Dans un contexte transfusionnel :

Chez les patients qui seront transfusés, la RAI est indiquée en pré-transfusionnel chez les polytransfusés et les femmes multipares.

2.2. Dans un contexte obstétrical :

La RAI, pratiquée chez les femmes enceintes, permet de détecter une alloimmunisation anti-érythrocytaire materno-fœtale, pouvant engendrer une maladie Hémolytique fœtale et/ou néonatale. Elle doit être pratiquée selon un calendrier qui dépend du groupe sanguin RhD de la femme enceinte et de son conjoint et des antécédents transfusionnels de la femme enceinte.

3. RAI DE DÉPISTAGE :

Se fait grâce à un panel réduit de dépistage, composé de 2 à 4 hématies tests soigneusement sélectionnées. Ce panel permet de dépister les Ac correspondant aux Ag qu'il comporte à savoir = D, C, c, E, e, Kell, cellano, M, N, S, s, P1, Lea, Leb, Fya, Fyb, Jka, Jkb, Lua, Lub. Il ne permet pas non plus d'identifier le ou les Ac qu'il dépiste. La seule réponse qu'il peut donner, c'est la présence d'Ac irréguliers dans le sérum pour les Ag sus-décrits.

4. RAI : IDENTIFICATION :

Lorsque le dépistage est positif, une identification est nécessaire. Elle utilise un panel d'identification officiellement défini et comportant 10 échantillons. Cette identification consiste à trouver la correspondance entre la distribution des réactions positives ou négatives observées et la présence ou l'absence d'un Ag quelconque.

La validité de la RAI est en général de moins de 72 heures. Elle peut être portée à moins de 21 jours en l'absence de circonstances d'alloimmunisations (antécédents transfusionnels et obstétricaux durant les 6 derniers mois)

Le schéma N°1 résume le déroulement global de la RAI.

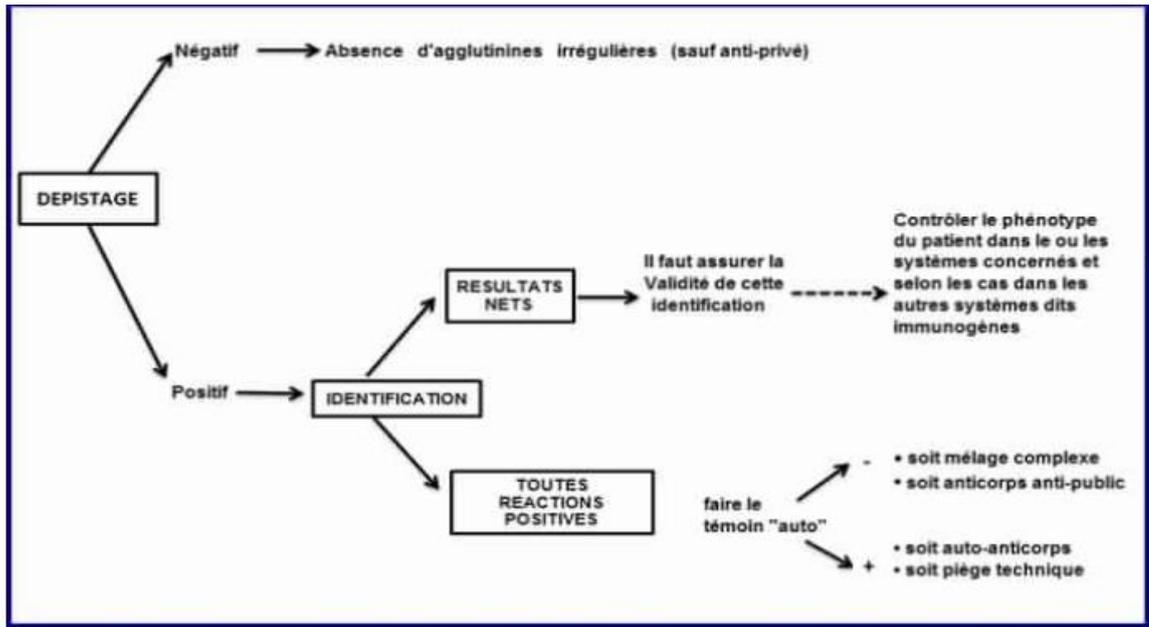


Schéma 1 : Déroulement de la RAI

5. CHOISIR LE BON MOMENT SURTOUT CHEZ LE POLYTRANSFUSE.

On sait que la concentration des Ac varie avec le temps selon le rythme des stimulations. Ceci est surtout le cas des polytransfusés qui, au cours de leur traitement transfusionnel, risquent d'être stimulés de façon répétée.

Chez de tels malades, une RAI avant une série de transfusion peut être négative, pour devenir positive entre le 7ème et le 21ème jour après la dernière transfusion. Elle se négativera ensuite plus ou moins rapidement. (Schéma 2)

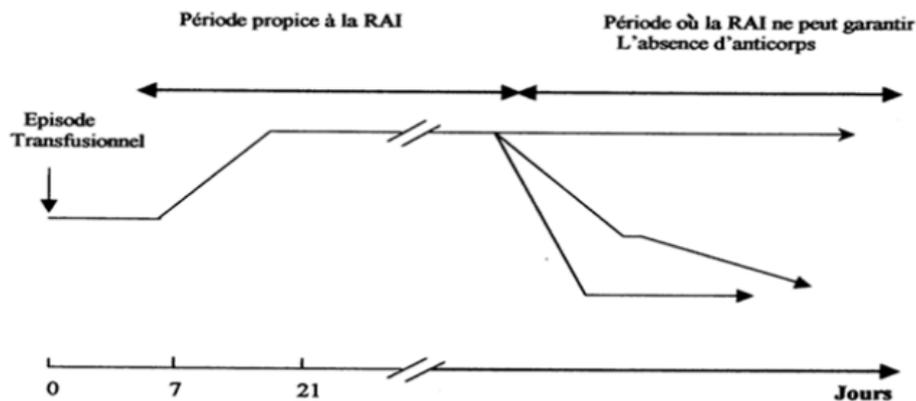


Schéma 2 : Evolution du titre des anticorps dans le temps

Cette négativité représente un facteur de risque puisque, si une autre transfusion ou série de transfusion est indiquée, le choix des globules ne tiendra pas compte de cet Ac qui n'a pu être déterminé et on risque de transfuser, à tort, un Ag incompatible et donc de réactiver un Ac passé inaperçu. Le meilleur schéma, compte tenu de tout ceci, peut être résumé comme suit :

- une RAI avant la transfusion, qu'elle soit isolée ou la 1ère d'une série. Son intérêt réside dans le fait qu'elle reconnaîtra un Ac naturel rare, un Ac anti-public ou un Ac immun (grossesse surtout).

- puis entre 7-21 jours après la dernière transfusion d'une série, puisqu'au lendemain d'une transfusion, l'éventuel Ac présent dans le sérum du receveur peut être suffisamment absorbé pour qu'il devienne impossible à identifier.

6. LIMITES DE LA RAI

La RAI, de par la constitution du panel, ne peut dépister un Ac anti-privé puisqu'il est impossible que tous ces Ag soient présents sur les hématies d'un panel même de référence. C'est l'épreuve de compatibilité au laboratoire qui a le plus de chance de mise en évidence de tels anticorps.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

1- La RAI :

- a) Permet d'assurer la sécurité immunohématologique des transfusions
- b) Permet la détection des anticorps naturels et réguliers anti-A et anti-B
- c) Est indispensable avant toute transfusion
- d) Permet le suivi immunohématologique des femmes enceintes
- e) Se fait au lit du patient

2- La RAI :

- a) Se fait en deux étapes : dépistage puis identification
- b) La RAI de dépistage permet de préciser la spécificité de l'Ac dépisté
- c) Utilise une gamme d'hématies–tests de groupe sanguin AB
- d) La RAI d'identification utilise un panel composé de 10 à 14 hématies de phénotype connu
- e) Permet de déterminer le phénotype des globules rouges du patient

3- La RAI :

- a) Ne permet pas de détecter les anticorps anti-privé
- b) Se fait idéalement avant la transfusion puis entre 7-21 jours après la dernière transfusion
- c) Doit associer obligatoirement une technique enzymatique et le test de Coombs
- d) Est plus sensible aux Ac de faible activité que le test de compatibilité au laboratoire
- e) Peut être négative si elle est réalisée après une transfusion récente

QROC

1- Citer les indications de la RAI

2- Indiquer la limite de la RAI

Réponses :

QCM 1 : A, D

QCM 2 : A, D

QCM 3 : A, B, D, E

LES PRODUITS SANGUINS LABILES : préparation, conservation et indications

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	34
1. INTRODUCTION	35
2. SCHEMAS DE PREPARATION DES PRODUITS SANGUINS :.....	35
2.1. Prélèvement de sang total sur poches plastiques	36
2.2. Prélèvement de sang sur machine (Aphérèse)	37
3. LES PRODUITS SANGUINS LABILES : OBTENTION, CONSERVATION ET INDICATIONS	37
3.1. Le sang total (ST)	37
3.2. Le concentré de globules rouges (CGR)	37
3.3. Le CGR déleucocyté.....	37
3.4. Le CGR déplasmatisé	38
3.5. Le CGR irradié :	38
3.6. Le CGR congelé ou cryoconservé	39
3.7. Le concentré standard de plaquettes (CPS)	39
3.8. Le plasma frais congelé (PFC).....	39
3.9. Le cryoprécipité et le plasma dépourvu de cryoprotéines (PDC).....	40
3.10. Les produits sanguins obtenus par aphérèse	40
3.11. Qualifications des produits sanguins labiles.....	40
4. LES DERIVES SANGUINS LABILES AUTOLOGUES.....	41
5. LES DERIVES SANGUINS STABLES : PREPARATION ET INDICATIONS (Tableau 1).....	41
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	43

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Préciser les modalités de prélèvement de sang pour préparation des produits sanguins.
- 2- Définir les différents produits sanguins labiles utilisés en thérapeutique transfusionnelle et préciser leurs caractéristiques.
- 3- SOMMAIREifier une prise en charge transfusionnelle devant un choc hémorragique suite à une hémorragie de la délivrance chez une femme de 30 ans.
- 4- Définir les produits sanguins autologues et expliquer leur intérêt en pratique transfusionnelle.
- 5- Définir et énumérer les produits sanguins stables, et préciser leurs indications.

1. INTROCUCTION

La transfusion sanguine est un traitement substitutif qui a pour but le soutien des principales fonctions du sang :

- Fonction oxyphorique (oxygénation) par l'apport d'érythrocytes ;
- Fonction hémodynamique par l'apport de produits de remplissage (albumine);
- Fonction hémostatique par les plaquettes et les facteurs de la coagulation ;
- Fonction immunitaire par les granulocytes et les immunoglobulines.

Ces divers produits sont obtenus après séparation des différents composants sanguins qui fait partie d'une longue chaîne technologique. Cette technologie de production permet au malade de recevoir la fraction du tissu sanguin qui lui est nécessaire

Il existe deux voies technologiques :

- La séparation du sang total en ces principaux constituants cellulaires et plasmatiques → **produits sanguins labiles (PSL)**
- Le fractionnement du plasma permettant d'avoir de l'albumine, des facteurs de coagulation et des immunoglobulines → **produits sanguins stables (PSS)**

Depuis le début des années 70, l'apparition des systèmes de poches plastiques reliées stérilement en circuit clos a permis un développement rapide de la préparation des produits sanguins labiles à partir d'un seul don de sang. Le principe de base de cette séparation repose sur la loi physique de la sédimentation d'une particule par centrifugation. En Tunisie, l'utilisation des flacons en verre a été définitivement délaissée depuis 1998.

2. SCHEMAS DE PREPARATION DES PRODUITS SANGUINS :

On distingue deux grandes modalités de prélèvement :

- le prélèvement de sang total (fig 1)
- Et le prélèvement par l'intermédiaire de machines automatiques ou par aphérèse.

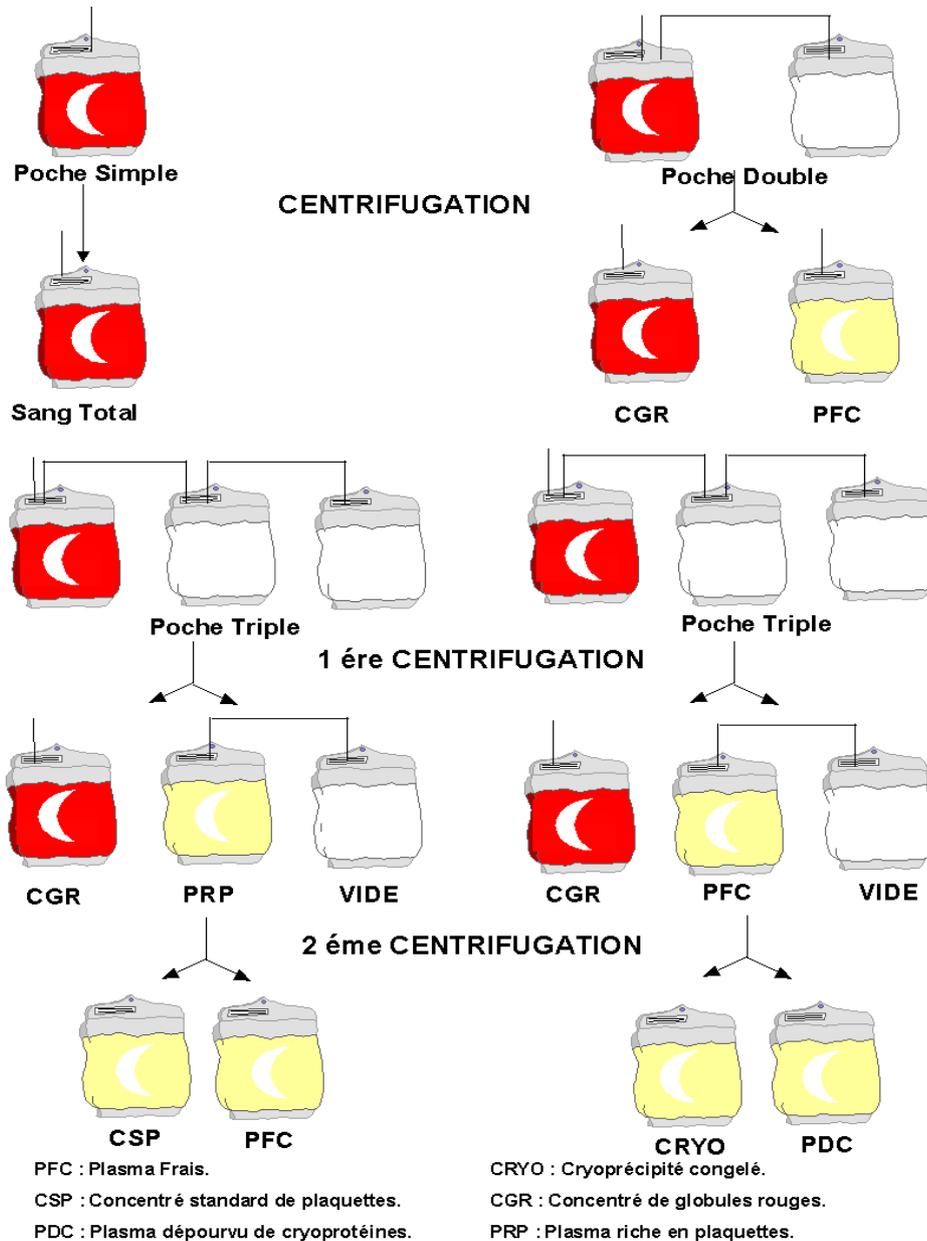


Figure 1 : Préparation de dérivés du sang a partir d'un prélèvement de sang total

2.1. Prélèvement de sang total sur poches plastiques

Après plusieurs étapes de préparation, il est possible d'obtenir 2 ou 3 produits finis en fonction du dispositif de prélèvement utilisé.

Plusieurs schémas sont possibles en fonction du type de poches utilisées pour le prélèvement (fig 1).

La préparation des PSL à partir du sang total comprend :

- Une étape de centrifugation : permettant d'accélérer la séparation des cellules sanguines en fonction de leur densité, de leur forme et de leur masse.
- Une étape de séparation : consistant à recueillir les différents composants séparés lors de la centrifugation dans des poches de transfert sous l'action d'une presse.

Par ailleurs, d'autres manipulations supplémentaires peuvent être réalisées, dans un deuxième temps, permettant d'obtenir des produits spéciaux utilisés dans des situations thérapeutiques spécifiques. Ces manipulations peuvent correspondre à :

- **Des qualifications** : consistent à réaliser des analyses biologiques supplémentaire : Phénotypage, compatibilisation , CMV négatifs

- **Des transformations** : correspondent à des étapes de préparation supplémentaires :

Déleucocytation, Irradiation, Déplasmatisation, Cryoconservation, Préparation pédiatrique, Reconstitution de sang total, viroatténuation

2.2. Prélèvement de sang sur machine (Aphérèse)

A côté du prélèvement de sang total, se sont développés les séparateurs de cellules qui permettent de recueillir sélectivement un ou plusieurs composants sanguins en restituant au donneur les autres composants. Le prélèvement est réalisé à un ou deux bras en fonction du type de séparateur. Le sang passe dans la machine où il est centrifugé ou filtré. Ainsi, la partie du sang à prélever est dirigée vers une poche de recueil. Le reste du sang est retransfusé au donneur. Les machines de plasmaphérèse permettent de recueillir du plasma et/ou des plaquettes. Les machines de cytophérèse permettent de recueillir des plaquettes, des globules rouges ou des globules blancs.

3. LES PRODUITS SANGUINS LABILES : OBTENTION, CONSERVATION ET INDICATIONS

Les produits sanguins labiles (PSL) se définissent comme des dérivés du sang dont la qualité diminue avec le temps. De ce fait, leur délai de conservation est limité. Ils sont dits **homologues** lorsque donneur et receveur sont différents et **autologues** lorsque le donneur et lui-même le receveur.

3.1. Le sang total (ST)

C'est une poche (ou un flacon) contenant le sang d'un donneur tel qu'il a été prélevé, additionné de la solution anticoagulante de préservation CPD ou CPD-Adénine. Le sang total est conservé à **+ 4°C**, pendant 21 jours lorsqu'il est prélevé sur CPD, et 35 jours si la solution contient de l'adénine (CPD-A). Le sang total n'a qu'une indication : exsanguino-transfusion du nouveau-né. En pratique, le sang total est reconstitué par le mélange aseptique d'un CGR avec de l'albumine ou un PFC, le tout c'est que le CGR soit conservé depuis moins de 72 H.

3.2. Le concentré de globules rouges (CGR)

C'est une suspension de globules rouges obtenue à partir d'une unité de sang total après soustraction aseptique du plasma surnageant et éventuelle adjonction d'une solution supplémentaire de conservation (SAG ou SAG-Mannitol : solution de chlorure de sodium, adénine, glucose et mannitol).

Il se conserve à +4°C pendant :

- 21 jours lorsqu'il n'y a pas d'adjonction de SAG ou SAG-Mannitol (CPD)
- 35 jours en cas d'addition de SAG
- 42 jours en cas d'addition de SAG-Mannitol

Le CGR est utilisé pour compenser les déficits en globules rouges retrouvés au cours des anémies. Plusieurs transformations et qualifications peuvent être appliquées au CGR. A chaque transformation et/ou qualification correspond une utilisation thérapeutique spécifique.

3.3. Le CGR déleucocyté

C'est un concentré globulaire auquel on a soustrait aseptiquement la majeure partie des leucocytes sans en détruire les autres composants. Cette déleucocytation

se fait habituellement en filtrant le concentré globulaire sur un filtre spécial qui retiendra la majorité des globules blancs ; les globules rouges traversent le filtre.

Après déleucocytation, le nombre de globules blancs résiduels est inférieur à 1.10^6 /CGR.

La conservation des CGR déleucocytés se fait à **+4°C** pour une durée variable en fonction du type de circuit :

- Circuit fermé : 21 j (CPD), 35 j (CPD-A), 42 j (SAG-MAN)
- Circuit ouvert : 24 H

La déleucocytation permet de renforcer la sécurité des PSL car l'élimination des leucocytes réduit les risques de :

- Transmission de micro-organismes, notamment pour les virus intra-leucocytaires (CMV, HTLV)
- Réactions indésirables lors de la transfusion, type frissons-hyperthermie
- Allo-immunisation anti-HLA

Indications des CGR déleucocytés :

- Prévention de l'allo-immunisation anti-HLA qui entraîne des réactions type frissons-hyperthermie
- Chez les receveurs qui font des réactions frissons-hyperthermie.
- Alternative à la qualification : « CMV négatif »

3.4. Le CGR déplasmatisé

C'est un concentré globulaire débarrassé de façon aseptique de la majeure partie du plasma ce qui permet de réduire les protéines qu'il contenait. Après déplasmatisation, la quantité résiduelle totale de protéines est inférieure à 0,5 g/L. L'élimination des protéines plasmatiques se fait par :

- Lavage en soluté de sérum physiologique à 9‰ sur machine automatique.
- Ou lavage « en manuel » avec le même soluté en utilisant des poches de transfert.

La conservation du concentré globulaire déplasmatisé se fait à **+4°C** pendant :

- 24 H : Circuit fermé (machine automatique ou utilisation de méthode « manuelle » avec connexion stérile).
- 06 H : Circuit ouvert (méthode « manuelle » sans connexion stérile).

Indications des CGR déplasmatisés :

- Chez les sujets déficitaires en IgA et présentant des anticorps anti-IgA
- Thrombopénie néonatale alloimmune nécessitant une transfusion de plaquettes maternelles.

3.5. Le CGR irradié :

Le CGR est exposé à une dose de rayonnements ionisants de 25-45 Grays permettant l'inactivation des lymphocytes en bloquant leur transformation lymphoblastique. Ce qui permet de prévenir la maladie du greffon contre l'hôte post-transfusionnelle (GVH).

Conservation :

- si irradiation avant le 15ème jour après prélèvement: date de péremption du produit de base
- si irradiation après le 15ème jour après prélèvement: à utiliser dans les 24H

Indications :

Même indications que les CGR mais:

- Déficit immunitaire congénital cellulaire
- Greffe de moelle pendant :
 - Au moins 1 an après autogreffe
 - À vie après allogreffe
- Justifiée qu'en cas d'immunosuppression profonde :

- Lors de chimiothérapies lourdes
- Chez les receveurs d'organes
- Exsanguino-transfusion et transfusion chez le NN ou in utero

3.6. Le CGR congelé ou cryoconservé

Les globules rouges peuvent être conservés par congélation, ce qui permet d'allonger leur durée de conservation au-delà de 42 jours. Ainsi :

- à -80°C (congélateur), les globules rouges sont conservés pendant 1 an.
- à -196°C (azote liquide), les globules rouges peuvent être gardés indéfiniment.

Après décongélation, le concentré de globules rouges est lavé et gardé au maximum 24 H à +4°C avant son utilisation. Les CGR congelés sont utiles en cas de transfusion de groupes rares, de sujets poly-immunisés ou immunisés contre des antigènes publics. Ils offrent aussi les avantages des CGR lavés.

3.7. Le concentré standard de plaquettes (CPS)

C'est une suspension de plaquettes obtenue à partir d'une unité de sang total par double centrifugation : la première lente permettant d'obtenir un PRP et un concentré globulaire (à partir du sang total) la deuxième rapide permettant d'obtenir un CPS et un PPP (à partir du PRP). Les CPS peuvent être obtenus après une seule centrifugation lorsque le support de prélèvement est une poche double. Le CPS contient au minimum de 5.10^{10} plaquettes et se conserve sous agitation continue à 22°C pendant 5 jours. Les CPS peuvent être utilisés à l'échelle unitaire ou être regroupés par poolage. Les transformations applicables sur les CP sont : la déleucocytation, la déplasmatisation, l'irradiation, et la cryoconservation.

Le CPS est utilisé pour le traitement des thrombopénies (déficits quantitatifs en plaquettes) ou des thrombopathies (déficits qualitatifs en plaquettes).

3.8. Le plasma frais congelé (PFC)

C'est un PPP obtenu à partir d'une unité de sang total après centrifugation puis congelé à une température $< -25^{\circ}\text{C}$ dans les 6H suivant le prélèvement.

Le PPP peut être obtenu à la suite de la première centrifugation lorsque le prélèvement est fait sur poche double ; ou après la deuxième centrifugation lorsque le prélèvement est fait sur poche triple ou quadruple. Le PFC est conservé 12 mois à une température $\leq -25^{\circ}\text{C}$. Avant distribution, le PFC doit être décongelé au bain-marie à 37°C. Après décongélation, le PFC doit être transfusé au plus tard dans les 6 heures. Dans un but de sécurité infectieuse, en particulier pour prévenir le SIDA, plusieurs types de PFC ont été créés :

- **PFC sécurisé** : le PFC est préparé et conservé dans les mêmes conditions que le PFC de base, mais sécurisé par quarantaine. Cette dernière consiste à conserver le plasma pendant un minimum de 120 jours. Cette quarantaine est destinée à couvrir la période sérologiquement muette précédant la séroconversion des maladies virales. Après ce délai, la distribution du PFC ne se fait que lorsque les examens biologiques du même donneur, venu une deuxième fois, sont négatifs...

NB : *Toutefois et compte tenu de la sensibilité croissante des tests de dépistage sérologiques, et donc de la période de séroconversion de plus en plus courte, la durée de la « quarantaine » peut être sensiblement réduite sans risque pour le receveur. Dans ce cas, chaque pays devra décider en fonction de ses données épidémiologiques.*

- **PFC solidarisé** : la solidarisation consiste à transfuser le plasma au receveur du concentré globulaire issu du même don. Ce qui exige des moyens informatiques et de stockage très important.

- **Plasma viro-inactivé (ou viro-atténué)** : cette transformation consiste à exposer le produit sanguin à des agents physiques ou chimiques ayant la propriété de détruire

les agents pathogènes potentiellement présents. Les techniques disponibles aujourd'hui sont le bleu de méthylène, l'amotosalen et les solvants-détergents. En Tunisie, ces techniques ne sont pas encore mises en place dans les centres de transfusion.

Indications du PFC : La transfusion de PFC doit être strictement réservée à des situations qui l'exigent de façon indiscutable :

- Coagulopathies graves de consommation avec effondrement de tous les facteurs de la coagulation (transfusion massive, CIVD)
 - Déficits en facteurs de la coagulation lorsque les fractions coagulantes spécifiques ne sont pas disponibles ; en effet, le PFC est le seul produit capable d'apporter le facteur V, la protéine S, le plasminogène et l'ADAMTS13, car il n'existe pas de fraction purifiée stable de ces facteurs.
 - Hémorragies aiguës avec déficit global des facteurs de coagulation
 - Purpura thrombotique thrombocytopénique et syndrome hémolytique et urémique
- L'utilisation du PFC comme une solution de remplissage dans les choc hypovolémique est à proscrire.

3.9. Le cryoprécipité et le plasma dépourvu de cryoprotéines (PDC)

Ils sont préparés à partir d'un PFC. Celui-ci est décongelé à froid (+4°C) puis centrifugé, ce qui permet de recueillir, en circuit clos, un surnageant (PDC) et un cryoprécipité riche en facteur VIII. Aussitôt séparés par le même système de presse sus-décrit, le PDC et le cryoprécipité doivent être recongelés.

Le cryo est conservé : - 6 mois (-30°C < T < -25°C)

- 24 mois (T < -30°C)

Le PDC est conservé : - 12 mois (-30°C < T < -25°C)

- 24 mois (T < -30°C)

Le cryoprécipité est utile au traitement des hémophiles A déficients en facteur VIII. Il peut représenter le produit de base pour la fabrication de concentré de facteur VIII. Le PDC, peut être utile pour le traitement des hémophiles B. Il représente le produit de base pour la fabrication des concentrés de facteur IX.

3.10. Les produits sanguins obtenus par aphérèse

3-10-1/ Plasmaphérèse : Permet d'avoir deux types de produits :

- Plasma pauvre en plaquettes : d'un volume allant jusqu'à 600 ml et permettant soit la préparation de PFC, soit être le produit de base à la préparation d'immunoglobulines spécifiques ou de facteurs de la coagulation ;
- Concentré de plaquettes-plasma (CPP) : il s'agit d'un produit qui contient l'équivalent de 4-6 CPS. Il se conserve sous agitation continue à +22°C, pendant 3-5 jours (plastique). Ce dernier a été délaissé au profit des CPA

3-10-2/ Cytaphérèse :

- Concentré unitaire de plaquettes (CUP) ou concentré de plaquettes d'aphérèse (CPA) : correspond à 8-12 CPS en moyenne.

Il se conserve sous agitation continue à +22°C pendant une durée de 5 jours.

Le CPP et le CPA permettent d'apporter beaucoup de plaquettes d'un même donneur ; ce qui diminue considérablement le risque d'immunisation et de transmission de maladies telles que le SIDA.

Enfin, le CPP et le CUP peuvent être déleucocytés par filtration.

- Concentré unitaire de granulocytes : il est préparé à partir d'un seul donneur par cytaphérèse. Son indication reste limitée aux neutropénies avec inefficacité des antibiotiques.

3.11. Qualifications des produits sanguins labiles

3-11-1/ Phénotypé

Le phénotypage se fait pour les concentrés de globules rouges. Il concerne un ou plusieurs systèmes de groupes sanguins autres qu'ABO et Rhésus (D).

Les CGR phénotypés sont utilisés pour la prévention :

- De l'allo-immunisation anti-érythrocytaire en cas d'anémies chroniques (thalassémie, drépanocytose, ...) exigeant des transfusions multiples ;
- Des accidents d'incompatibilité transfusionnelle chez les malades déjà immunisés.

3-11-2/ CMV négatif

Ce qualificatif concerne les produits cellulaires (CG, CPS, CPA, ...).

Les produits CMV négatifs (absence d'Ac anti-CMV) sont indiqués pour la prévention de l'infection à cytomégalovirus chez les sujets immunodéprimés (nouveau-né prématuré, sujets greffés, ...).

4. LES DERIVES SANGUINS LABILES AUTOLOGUES

L'ensemble des dérivés sanguins étudiés sont issus de dons homologues, c'est-à-dire, un donneur sain offre son sang qui va être utilisé pour un malade. Ce dernier peut cependant donner pour lui-même. Le don est ainsi appelé « autologue ».

L'utilisation de dérivés autologues permet de rendre aux malades leur propre sang et éviter ainsi les complications immunologiques ou infectieuses éventuelles, au premier rang desquelles se trouvent les hépatites et le SIDA.

5. LES DERIVES SANGUINS STABLES : PREPARATION ET INDICATIONS

(Tableau 1)

Les produits sanguins stables (PSS) sont des dérivés du plasma dont les qualités sont conservées pendant longtemps. De ce fait, ils peuvent être conservés pendant plusieurs années. Ils sont tous dérivés du plasma et produits après une longue chaîne de fractionnement. Trois groupes de produits peuvent être individualisés : l'albumine, les facteurs de la coagulation et les immunoglobulines.

Sécurité des dérivés sanguins stables :

L'ensemble de ces dérivés stables est sans risque* de transmission des maladies actuellement connues, en particulier les hépatites et le SIDA. En effet, au cours du procédé de fabrication, les PSS sont soumis à plusieurs étapes de réduction des pathogènes qui recouvrent un large spectre de virus. Toutefois, ces dernières ne sont pas actives sur le prion (variante de la maladie de creutzfeldt jakob).

*recul important depuis la fin des années 80 du siècle dernier.

Tableau 1 : produits sanguins stables, conservation et indications.

Produit	Conservation	Indications
Albumine (4%, 20%)	3 ans à +22°C 5 ans à +4°C	- Hypovolémie (remplissage) - Déficits oncotiques aigus - Hypo albuminémie chronique - Prévention de l'ictère nucléaire du nouveau-né - Remplacement dans les échanges plasmatiques
Facteurs de la coagulation		
Fibrinogène Facteur VIII (hémophilie A) Facteur Willebrand Facteur VII Facteur IX (hémophilie B) PPSB ATIII	3 ans à+ 4°C	Traitement substitutif du déficit en facteur correspondant.
Immunoglobulines (Ig)		
Polyvalentes :		- Déficits immunitaires congénitaux ou acquis - Immuno-modulation (PTT)
Spécifiques :		Prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né
* anti-D	3 ans à+ 4°C	
* anti-Virus anti- Bactérie		Traitement préventif ou curatif des maladies liées à ces microbes : (ex : Ig anti-tétanique)
* anti-allergènes		Traitement préventif ou curatif des pollinoses saisonnières (rhume des foins)
PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique		

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

- 1- Les produits sanguins labiles (PSL) :**
 - A. Ont une durée de conservation limitée
 - B. Sont préparés exclusivement à partir des dons de sang total
 - C. Possèdent tous les mêmes conditions de conservation
 - D. Peuvent être d'origine homologue ou autologue
 - E. Les PSL autologues offrent une meilleure sécurité transfusionnelle que les PSL homologues
- 2- Le concentré plaquettaire d'aphérèse :**
 - A. Est obtenu à partir de deux ou 3 donneurs
 - B. La technique d'aphérèse ne permet que le prélèvement de plaquettes (CPA)
 - C. Est issu d'un donneur unique
 - D. Est systématiquement déleucocyté
 - E. Peut être conservé longtemps par cryoconservation
- 3- Le concentré de plaquettes standards :**
 - A. Est un mélange de plusieurs concentrés de plaquettes de même groupe ABO
 - B. Doit être systématiquement déleucocyté avant la transfusion
 - C. A une durée de conservation maximale de 21 jours
 - D. Est conservé à une température comprise entre 20 et 24 °C sous agitation horizontale continue
 - E. Est obtenu au moyen d'un séparateur de cellules
- 4- Le plasma frais congelé (PFC) :**
 - A. La décongélation d'un PFC doit se faire au bain-marie à 37 °C
 - B. Le PFC sécurisé bénéficie d'une mise en quarantaine pour une durée de 120 jours
 - C. Après décongélation, un PFC doit être transfusé au plus tard dans les 6 heures
 - D. L'atténuation virale des PFC est systématique en Tunisie
 - E. Constitue la matière première pour le fractionnement

CAS CLINIQUE QCM

Monsieur F., 45 ans, est suivi pour un SMD diagnostiqué il y a 3 ans. Il est régulièrement transfusé en CGR. Lors de sa dernière consultation, il se plaint de fatigue accrue, d'un essoufflement à l'effort minimal et de palpitations. Les examens de laboratoire montrent une hémoglobine à 6,5 g/dL, et une ferritine élevée. Son groupe sanguin est O positif Cc ee Kneg.

QCM 1 : Quelle est l'indication principale de la transfusion de globules rouges chez ce patient ?

- A. Corriger une anémie symptomatique
- B. Prévenir une infection
- C. Traiter une hyperbilirubinémie
- D. Réduire une hyperkalémie
- E. Corriger la myélodysplasie

QCM 2 : Quelle est la prise en charge recommandée pour prévenir les effets indésirables transfusionnels chez ce patient ?

- A. Administrer des concentrés érythrocytaires irradiés
- B. Utiliser des concentrés érythrocytaires phénotypés et compatibilisés
- C. Transfuser du plasma frais congelé systématiquement
- D. Administrer des immunoglobulines intraveineuses
- E. Administrer des corticoïdes

Réponses :

QCM 1 : A, D, E

QCM 2 : C, E

QCM 3 : D

QCM 4 : A, B, E

CAS CLINIQUE FEEDBACK

La prise en charge d'un patient polytransfusé nécessite une vigilance particulière pour éviter les complications liées aux transfusions répétées et à la présence d'anticorps irréguliers.

Réponses :

QCM 1 : A

QCM 2 : B

L'ÉPREUVE DE COMPATIBILITÉ AU LABORATOIRE (EDCL)

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	45
1. PRINCIPE	46
2. INDICATION :	46
3. LIMITES	46
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	47

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Définir l'épreuve de compatibilité au laboratoire
2. Préciser l'intérêt de l'épreuve de compatibilité au laboratoire
3. Préciser l'indication de l'épreuve de compatibilité au laboratoire
4. Expliquer les limites de l'épreuve de compatibilité au laboratoire

1. PRINCIPE

C'est l'un des piliers majeurs de la sécurité immuno-hématologique transfusionnelle.

Elle est pratiquée dans l'établissement de transfusion et consiste à tester le sérum ou le plasma du receveur vis-à-vis des hématies à transfuser par au minimum un test à l'antiglobuline.

Cet examen permet de détecter la présence d'un anticorps dans le sérum ou le plasma du patient dirigé contre un antigène exprimé par les globules rouges du donneur. La seule réponse qu'il peut donner est : poche compatible ou incompatible. Il permet donc d'éviter une situation d'incompatibilité immunologique transfusionnelle.

Elle permet une attribution nominative du concentré de globules rouges (CGR) compatible. Un CGR compatible pour un malade ne doit pas être considéré comme tel pour un autre malade. L'épreuve est strictement personnalisée.

Une importance particulière doit être accordée au prélèvement des échantillons sanguins destinés à la réalisation de l'épreuve de compatibilité au laboratoire. Ils doivent être identifiés d'une manière précise. Ils doivent porter une étiquette indiquant le nom, prénom, date de naissance, matricule et service d'hospitalisation du receveur et la date du prélèvement.

2. INDICATION :

Auparavant, l'épreuve de compatibilité au laboratoire était obligatoire avant la transfusion de concentré de globules rouge (circulaire 32/2015).

Des modifications ont été apportées à la réglementation depuis 2023 (circulaire N° 4/23 relative à la sécurité transfusionnelle) :

- Avant toute transfusion de concentré de globules rouges, l'épreuve de compatibilité au laboratoire **et/ou** la recherche d'anticorps irréguliers anti-érythrocytaires (RAI) chez le receveur sont obligatoires
- En cas de positivité de la RAI chez le receveur avec identification d'un ou de plusieurs anticorps anti-érythrocytaires, il faut procéder à la réalisation de l'épreuve de compatibilité au laboratoire sur des CGR phénotypés dépourvus des antigènes correspondants aux anticorps identifiés. (Obligatoire en cas de RAI positive)

3. LIMITES

❖ UN CGR compatible avec le plasma d'un patient à une date X ne l'est pas ultérieurement de façon certaine pour le même patient, particulièrement pour les patients polytransfusés. En effet, ces patients peuvent développer des alloanticorps anti-érythrocytaires du fait des stimulations antigéniques répétées (par transfusion ou grossesse). De ce fait, la validité du test de compatibilité est en général de moins de 72 heures. Le délai de validité peut être porté à 21 jours (maximum) en cas d'absence de circonstance d'alloimmunisation (transfusion ou grossesse dans les 6 derniers mois) (circulaire N° 4/23 relative à la sécurité transfusionnelle)

❖ La date de l'épreuve par rapport à une transfusion récente : chez les patients transfusés de façon répétée et rapprochée, l'Ac éventuellement présent peut être suffisamment adsorbé par les hématies du donneur en circulation chez le receveur, l'épreuve de compatibilité peut être, à tort, négative et conduire à transfuser du sang incompatible (risque d'une réaction hémolytique post-transfusionnel) .

❖ Lorsque les hématies d'une poche sont hétérozygotes pour un antigène donné, tel que le système Kidd : Jk (a+b+), un Ac anti-Kidd de faible activité chez le receveur peut ne pas être détecté par les hématies hétérozygotes. L'épreuve de compatibilité sera faussement négative (transfusion incompatible et risque d'hémolyse post-transfusionnelle).

TESTS D'AUTOEVALUATION

1. L'épreuve de compatibilité au laboratoire :

- A. Est obligatoire avant la transfusion des concentrés plaquettaires
- B. Est obligatoire avant la transfusion des concentrés érythrocytaires
- C. Se fait au moins par le test à l'antiglobuline
- D. Consiste à tester le sérum du donneur avec les globules rouges du receveur
- E. Se fait au lit du malade

2. L'épreuve de compatibilité au laboratoire :

- A. Est un pilier majeur de la sécurité immunologique des transfusions sanguines
- B. Est strictement personnalisée
- C. Est valable pour 6 mois
- D. Peut être faussement négative si on utilise des hématies hétérozygotes
- E. Doit tenir en compte la date de la dernière transfusion

3. L'épreuve de compatibilité au laboratoire :

- A. Se fait pour tous les CGR à transfuser
- B. Comporte une vérification simplifiée des groupes ABO du receveur et du sang destiné à être transfuser
- C. Peut être réalisé par le simple mélange du sang du donneur avec celui du receveur
- D. Permet de détecter une incompatibilité ABO
- E. Ne doit pas être réalisé dans les situations d'urgence

CAS CLINIQUE QCM :

Madame B.A Agée de 60 ans VG VP VEV admise au service de gynécologie pour hystérectomie. Elle est anémique à 6 g/dL avec une mauvaise tolérance clinique (dyspnée, palpitation et tachycardie).

Une demande de deux concentrés de globules rouges (CGR) a été faite.

1. Les examens immuno-hématologiques à demander obligatoirement avant la transfusion de CGR sont :
 - A. Un groupage sanguin
 - B. Un phénotypage Rhésus -Kell
 - C. Une épreuve de compatibilité au laboratoire
 - D. Une recherche d'agglutinines irrégulières
 - E. Un test direct à l'antiglobuline
2. Une épreuve de compatibilité au laboratoire positive peut être liée à :
 - A. Un allo-anticorps sérique
 - B. Un auto-anticorps sérique
 - C. Une anti-globuline contaminée
 - D. Une transfusion récente en CGR
 - E. Hémolysine anti-A d'un donneur O dangereux
3. Une épreuve de compatibilité au laboratoire :
 - A. Se fait pour tous les CGR à transfuser
 - B. Comporte une vérification simplifiée des groupes ABO du receveur et du sang destiné à être transfuser
 - C. Peut être réalisé par le simple mélange du sang du donneur avec celui du receveur
 - D. Permet de détecter une incompatibilité ABO
 - E. Se fait en Coombs indirect

Réponses :

QCM 1 : B, C

QCM 2 : A, B, D

QCM 3 : A, D

CAS CLINIQUE : FEEDBACK

Les examens biologiques visant à assurer la sécurité transfusionnelle immunohématologique chez le receveur sont : groupage sanguin ABO rhésus standard D, phénotypage érythrocytaire rhésus (C,c, E,e) et Kell (K), épreuve de compatibilité au laboratoire et/ou une RAI.

Les examens obligatoires sont :

- Le groupage sanguin ABO rhésus standard D,
- L'épreuve de compatibilité au laboratoire et/ ou la RAI.

Le phénotypage Rhésus Kell est indiqué chez les fillettes, les femmes en âge de procréer et les polytransfusés.

Une épreuve de compatibilité positive ou incompatible peut être liée à un allo ou auto-anticorps, à une erreur pré analytique telle qu'une anti globuline de mauvaise qualité ou contaminée.

L'épreuve de compatibilité au laboratoire se fait pour tous les CGR à transfuser et par au moins un test à l'antiglobuline.

Réponses:

1. ACD
2. ABC
3. ADE

L'ÉPREUVE ULTIME AU LIT DU MALADE (EULM)

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	49
1. Principe et Objectifs.....	50
2. Réalisation.....	50
2.1. Qui ?.....	50
2.2. Comment ?.....	50
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	52

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Préciser l'intérêt de l'épreuve ultime au lit du malade
2. Décrire les modalités de la réalisation de l'épreuve ultime au lit du malade

1. Principe et Objectifs

C'est le dernier contrôle pré-transfusionnel (dernier verrou de sécurité) à réaliser obligatoirement avant la transfusion de produits sanguins labiles (PSL).

En effet, étant donné la multitude d'intermédiaires entre donneur et receveur, une erreur humaine peut se produire notamment au niveau de l'étiquetage ou de la lecture du nom du receveur.

Ce contrôle pré-transfusionnel permet de détecter une éventuelle **erreur ABO** avec sa gravité bien connue.

Ce test doit être réalisé même dans les situations d'urgence, en cas de transfusion autologue et pour tous les PSL à transfuser.

2. Réalisation

2.1. Qui ?

Tout personnel paramédical ayant reçu la formation suffisante peut, sous la responsabilité du médecin transfuseur, réaliser ce contrôle pré-transfusionnel. Les pièges techniques étant très peu nombreux : mauvaise conservation des sérums- tests, receveur présentant une hyper-gammaglobuline ou agglutinines froides, ...En cas de doute, le contact avec l'établissement local de transfusion s'impose.

Remarque : *la transfusion sanguine n'est jamais un acte anodin. Toute transfusion d'un produit sanguin labile engage la responsabilité du cadre médical et paramédical. La cadre médical et paramédical transfuseurs doivent veiller à l'application des mesures garantissant la sécurité transfusionnelle et ce conformément aux textes réglementaires (circulaire 03/2023 relative à la sécurité transfusionnelle).*

2.2. Comment ?

Il est à noter que les vérifications pré-transfusionnelles doivent être pratiquées là où se trouve le malade (au lit du patient, bloc opératoire...).

Pour tous les PSL, il faut, juste avant de transfuser :

- Vérifier l'identité du receveur, l'intégrité de la poche, l'aspect de son contenu et la date limite d'utilisation.
- Procéder aux contrôles suivants :

- ❖ **Pour la transfusion de produits érythrocytaires :**

- vérifier le numéro de la poche à transfuser avec celui inscrit sur le bon de livraison ou sur l'étiquette solidaire
- vérifier la concordance entre l'identité du receveur et celle inscrite sur sa carte de groupe
- s'assurer de la concordance du groupe sanguin du receveur inscrit sur sa carte de groupe avec celui de l'unité de sang à transfuser
- s'assurer que l'épreuve de compatibilité directe au laboratoire et/ou la RAI ont été effectuées.
- s'assurer de la concordance entre les résultats d'une RAI positive et des phénotypes des unités de sang à transfuser
- effectuer l'épreuve de contrôle ultime au lit du malade selon l'une des modalités suivantes :

- **Contrôle du groupe sanguin ABO du malade et des globules rouges à transfuser au moyen de l'épreuve globulaire de Beth-Vincent.**

La technique de Beth-Vincent peut se faire sur :

- ✓ La plaque d'opaline avec des sérums-tests anti-A, anti-B et anti-A+B liquide correctement conservés au réfrigérateur
- ✓ La carte de contrôle pré-transfusionnel en carton avec des sérums-tests soit liquides dans de tubulures en plastique scellées ou desséchés portés par la carte elle même.

Une attention toute particulière est à attacher aux modalités de mélange sérums-test-sang de la poche ou du receveur (prélevé au bout du doigt ou par ponction veineuse), chaloupage et lecture des réactions.

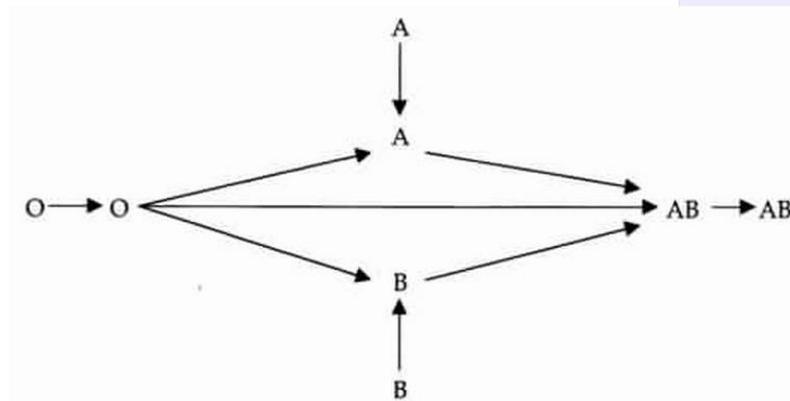


Schéma 1 : Règles de compatibilité ABO pour les transfusions de CGR

- **Contrôle direct de la compatibilité en mettant en présence le sérum ou le plasma du malade avec les CGR à transfuser (ne jamais utiliser le sang total du malade)**

❖ **Pour la transfusion de plaquettes :**

S'assurer autant que possible ; de la concordance du groupe sanguin ABO du receveur inscrit sur sa carte de groupe avec celui du concentré plaquettaire.

Le non-respect de la compatibilité ABO pour la transfusion plaquettaire est possible.

❖ **Pour la transfusion de plasma (PFC) :**

S'assurer de la concordance du groupe sanguin ABO du receveur inscrit sur sa carte de groupe avec celui de l'unité de plasma à transfuser.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

1. L'épreuve ultime au lit du malade :

- A. Est obligatoire avant la transfusion des concentrés plaquettaires
- B. Est obligatoire avant la transfusion des concentrés érythrocytaires
- C. Se fait au moins par le test à l'antiglobuline
- D. Consiste à tester le sérum du donneur avec les globules rouges du receveur
- E. Se fait au lit du malade

2. L'épreuve ultime au lit du malade :

- A. Se fait au lit du malade
- B. C'est le dernier verrou de sécurité
- C. Permet de dépister une incompatibilité Rhésus D
- D. N'est pas obligatoire pour tous les patients
- E. Doit être réalisé par le médecin prescripteur

3. L'épreuve ultime au lit du malade :

- A. Se fait pour tous les CGR à transfuser
- B. Comporte une vérification simplifiée des groupes ABO du receveur et du sang destiné à être transfuser
- C. Peut être réalisé par le simple mélange du sang du donneur avec celui du receveur
- D. Permet de détecter une incompatibilité ABO
- E. Ne doit pas être réalisé dans les situations d'urgence

CAS CLINIQUE QCM

Madame AB anémique à 6 g/dl va être transfusée au service de chirurgie générale, vous êtes de garde au service et vous allez pratiquer l'épreuve ultime au lit du malade.

1. L'épreuve ultime au lit du malade :

- A. Se fait au laboratoire
- B. Peut détecter des allo-anticorps sérique
- C. Permet de dépister une incompatibilité Rhésus D
- D. Est obligatoire pour tous les CGR
- E. Doit être réalisée par le médecin prescripteur ou le personnel paramédical

2. Lors de la réalisation de l'épreuve ultime au lit du malade :

- A. Les vérifications des documents immuno-hématologiques sont nécessaires
- B. Le simple mélange des 2 sangs (receveur et CGR) est fiable
- C. La non concordance des phénotypes érythrocytaires est mise en évidence
- D. Se fait par la réalisation de l'épreuve globulaire et de l'épreuve sérique du patient et du CGR

3. La présence d'une agglutination dans l'épreuve de compatibilité entre le plasma du patient et l'échantillon du CGR à transfuser :

- A. Annule la transfusion
- B. Impose un conseil transfusionnel
- C. Ne modifie pas la conduite transfusionnelle
- D. Justifie la re vérification de toutes les étapes antérieures
- E. Signifie que l'épreuve est compatible

Réponses :

QCM 1 : B, E

QCM 2 : A, B

QCM 3 : A, B, D

CAS CLINIQUE : FEEDBACK

L'épreuve ultime au lit du malade est le dernier verrou de sécurité. Elle se fait au lit du malade par tout personnel médical ou paramédical. Elle est obligatoire par la circulaire 4/23.

Elle commence par les vérifications de documents notamment la carte de groupage sanguin, le phénotypage, les résultats d'une dernière RAI...Elle se fait selon 2 modalités soit la détermination des épreuves globulaires des CGR et du patients soit par le mélange entre le plasma ou le sérum du patient avec un échantillon du CGR prélevés à partir de la tubulure. L'agglutination dans l'épreuve de compatibilité (sérum - échantillon de GR) signifie que l'épreuve est incompatible et justifie l'information du service de distribution et ne justifie en aucun cas la transfusion.

Réponses :

1. D, E
2. A
3. ABD

L'HEMATOPOIESE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	54
1. Introduction.....	55
2. Ontogénèse de l'hématopoïèse (Figure N°1).....	55
3. Sièges de l'hématopoïèse	56
3.1. Sièges macroscopiques	56
3.2. Sièges microscopiques.....	56
4. L'hématopoïèse myéloïde.....	58
4.1. Compartiment des cellules souches.....	58
4.2. Compartiment des progéniteurs	58
4.3. Compartiment des progéniteurs	59
4.4. Caractérisation phénotypique des différents compartiments	59
4.5. Aspects morphologiques.....	59
5. Régulation de l'hématopoïèse	59
5.1. Facteurs humoraux de régulation.....	59
5.2. La régulation de l'hématopoïèse (Figure N°2).....	60
6. Exploration fonctionnelle de la moelle osseuse	61
6.1. Hémogramme	61
6.2. Taux de réticulocytes	61
6.3. Ponction médullaire	61
6.4. Biopsie de la moelle.....	62
6.5. Autres investigations.....	62
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	64

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Définir l'hématopoïèse
2. Citer les lieux de l'hématopoïèse
3. Préciser les principaux stades de l'hématopoïèse au cours du développement embryonnaire
4. Citer les compartiments des cellules hématopoïétiques et préciser les caractéristiques des cellules de chaque compartiment
5. Citer les principaux facteurs de croissance intervenant dans l'hématopoïèse ainsi que leurs sites d'action
6. Préciser les méthodes d'investigation de la fonction médullaire

1. Introduction

Les cellules sanguines (hématies, granuleux, lymphocytes, monocytes et plaquettes) ont une durée de vie limitée et sont des cellules incapables de renouvellement.

L'hématopoïèse est, par définition, l'ensemble des mécanismes aboutissant au renouvellement continu et régulé des différentes cellules sanguines à partir de la cellule souche hématopoïétique et ayant pour but l'équilibre du tissu hématopoïétique (homéostasie).

La moelle osseuse fonctionnelle est un tissu semi-solide, qui est localisé dans les os plats de l'organisme de l'adulte normal. Ce tissu est composé d'une matrice ayant un rôle protecteur et trophique, au sein de laquelle croissent les cellules hématopoïétiques. Cette matrice est composée d'éléments non cellulaires (trame osseuse, molécules d'adhésion et cytokines) et cellulaires (cellules non hématopoïétiques du stroma médullaire).

2. Ontogénèse de l'hématopoïèse (Figure N°1)

Le tissu hématopoïétique apparaît très tôt dans le développement embryonnaire humain. Il va progressivement se modifier dans ses localisations, son architecture, ses fonctions et ses aspects cytologiques au cours de la vie intra-utérine pour aboutir, à la naissance, à une hématopoïèse de type adulte. Ce développement est caractérisé par 3 stades principaux :

- **Le stade primitif mésodermique** : s'étale sur les 5 premières semaines de la gestation. Il correspond à la différenciation au sein du tissu conjonctif embryonnaire des îlots sanguins primitifs, foyers de différenciation intravasculaire d'érythroblastes. Les îlots sont visibles sur le sac vitellin dès le 19^{ème} jour de la gestation. Les cellules de ces îlots sont formées d'hémangioblastes, précurseurs communs aux systèmes hématopoïétiques et vasculaires. Issus de l'ébauche aortique, ces hémangioblastes vont par la suite coloniser l'embryon.
- **Le stade hépato-splénique** : s'étale du 3^{ème} au 6^{ème} mois fœtal. À la 5^{ème} semaine, le tissu hématopoïétique primitif colonise l'ébauche hépatique. L'hématopoïèse, majoritairement érythroblastique, va s'y développer en même temps qu'elle acquiert un aspect cytologique qui rassemble à celui de la période adulte. La granulopoïèse reste faible. Le foie restera l'organe hématopoïétique quasi exclusif jusqu'au 5^{ème} mois. Une hématopoïèse splénique et ganglionnaire qui est présente, mais minoritaire, entre le 3^{ème} et le 5^{ème} mois, disparaît ensuite.
- **Le stade médullaire** : il apparaît au 4^{ème} ou 5^{ème} mois à la suite de la formation des cavités osseuses médullaires par colonisation à partir du foie. L'hématopoïèse y est d'abord majoritairement granuleuse, jusqu'au 6^{ème} mois. Puis elle va assurer toutes les fonctions, dont l'érythropoïèse, pour devenir l'organe majoritaire à partir du 6^{ème} mois. L'hématopoïèse hépatique décroît ensuite pour disparaître à la naissance. Les zones actives sont alors étendues aux os plats et aux os longs. L'hématopoïèse des os longs disparaît au cours de la croissance, remplacée par du tissu adipeux, et seuls les os plats restent actifs chez l'adulte.

Le foie et la rate sont des organes hématopoïétiques actifs chez le fœtus. Après la naissance, ils peuvent abriter une hématopoïèse anormale, dite « métaplasie myéloïde » dans les fibroses médullaires ou les proliférations myéloïdes.

3. Siège de l'hématopoïèse

3.1. Siège macroscopique

La moelle active est rouge, du fait de sa richesse en érythroblastes, globules rouges et nombreux vaisseaux sanguins. La moelle inactive apparaît jaune, constituée essentiellement d'adipocytes.

- A la naissance, et jusqu'à l'âge de 4 ans, la moelle rouge occupe la totalité des cavités osseuses, à l'exception des phalanges terminales.
- A partir de 4 ans, une involution adipeuse de nombreux territoires médullaires est liée à un accroissement de volume des cavités osseuses. Cette involution débute dans les extrémités des membres et s'accroît à partir de l'âge de 7 ans. Chez l'adulte, la moelle hématopoïétique n'est présente que dans certains os (proximaux): vertèbres, sacrum, os iliaque, côtes, sternum, crâne, extrémités supérieures du fémur et de l'humérus.

Le myélogramme donne la composition cellulaire quantitative de la moelle. Chez l'adulte, la lignée granuleuse, représente en moyenne 60 % des cellules médullaires, la lignée érythroblastique 25 %. Le pourcentage des lymphocytes varie avec l'âge : de l'ordre de 12 % le premier jour de la vie, il monte à presque 50 % vers la fin du premier mois, puis descend progressivement pendant les deux premières années pour atteindre un taux moyen de 15 %. Les plasmocytes représentent moins de 2 % des cellules médullaires.

Du point de vue quantitatif, la moelle représente en moyenne 5 % du poids du corps, dont la moitié de moelle rouge. Le volume de la moelle varie de 1 350 à 4 200 ml soit 6,8 ml/kg et un volume moyen total de 500 ml pour les trois lignées myéloïdes. Le volume médullaire est sujet à des variations dans certaines pathologies médullaires.

3.2. Siège microscopique

3.2.1. Réseau vasculaire médullaire

La vascularisation est l'élément central de la microstructure médullaire, permettant le passage de substances stimulantes et la libération des cellules matures. Les sinusoides anastomosés forment l'unité élémentaire vasculaire de la moelle, lieu privilégié des migrations cellulaires. L'endothélium des capillaires sinusoides est traversé par les cellules souches hématopoïétiques passant du sang dans les niches d'hématopoïèse extravasculaire (homing) et par les cellules sanguines matures passant sélectivement de la moelle dans le sang (diabase). Le réseau vasculaire médullaire est doublé d'un réseau nerveux avec des fibres vasomotrices, capable de transmettre la sensation de douleur lors de l'aspiration du myélogramme.

3.2.2. Stroma ou tissu de soutien médullaire

Les cellules qui structurent les niches hématopoïétiques sont les cellules stromales, cellules de soutien conjonctif médullaire. Elles dérivent d'une cellule souche différente de la cellule souche hématopoïétique qui se différencie en divers types cellulaires : cellules réticulaires fibroblastiques, cellules endothéliales, adipocytes, ostéoblastes. Il s'y associe des molécules de la matrice extracellulaire (collagène, laminine, fibronectine, protéoglycans, etc ...) et des cytokines ancrées sur les membranes cellulaires et la matrice extracellulaire. Les processus de multiplication et de différenciation cellulaires au cours de l'hématopoïèse nécessitent un contact étroit entre les cellules stromales et les cellules hématopoïétiques. L'interaction des cellules stromales avec les cellules hématopoïétiques est soit direct (contact cellule à cellule), soit indirecte par la sécrétion des molécules régulatrices. Les pathologies hématologiques myéloïdes humaines illustrent la différence d'origine entre les cellules hématopoïétiques et stromales médullaires. Au cours des myélofibroses associées

aux hémopathies myéloïdes, les fibroblastes ne dérivent pas des cellules du clone myéloïde. La greffe de cellules souches allogéniques chez l'homme ne s'accompagne pas de greffe du composant fibroblastique stroma médullaire.

a. Cellules réticulaires fibroblastiques de la moelle hématopoïétique

L'hématopoïèse médullaire se fait dans des territoires extravasculaires structurés par un réseau de cellules fibroblastiques. Les fibroblastes médullaires (appelés encore : myofibroblastes, cellules réticulaires stromales ou cellules adventicielles médullaires), apparaissent comme des cellules allongées, avec de fins prolongements cytoplasmiques, observables seulement avec des techniques spéciales. Ils forment la trame sur laquelle adhèrent les cellules hématopoïétiques. Ces fibroblastes :

- procurant les cytokines et les protéines de la matrice extracellulaire nécessaires à la prolifération et à la maturation des cellules hématopoïétiques.

- et synthétisent les molécules de la matrice extracellulaire (laminine, fibronectine, protéoglycans).

b. Adipocytes

Les adipocytes apparaissent rapidement lorsque l'activité hématopoïétique diminue et, à l'inverse, disparaissent rapidement lorsque la cellularité myéloïde augmente. Ils diffèrent de ceux du reste de l'organisme par leur plus petite taille et leur composition lipidique.

c. Matrice extracellulaire médullaire

La matrice extracellulaire est formée par un réseau complexe de molécules synthétisées par les cellules stromales.

Le réseau de fibres dit de réticuline, révélées par les colorations argentiques, correspond à des glycoprotéines associées aux fibres de collagène de type III. Le collagène de type IV, synthétisé par les cellules endothéliales, est le composant majeur des membranes basales bordant la face externe de l'endothélium.

Les composants non fibrillaires de la matrice extracellulaire sont des macromolécules :

- Les glycoaminoglycans : peuvent se fixer aux molécules de la matrice extracellulaire comme la fibronectine, et aux facteurs de croissance hématopoïétiques comme le GM-CSF, l'IL3, d'où leur influence sur la prolifération hématopoïétique.
- Les héparanes sulfates : jouent un rôle dans les interactions entre cellules du stroma et progéniteurs hématopoïétiques.
- La fibronectine : procure des sites d'adhésion pour les cellules hématopoïétiques, en particulier érythroblastiques.
- L'hémonectine : procure des sites d'adhésion pour les cellules granuleuses.
- La laminine : est une glycoprotéine présente surtout dans les membranes basales, jouant un rôle dans le passage des macromolécules à travers la basale.

3.2.3. Compartimentation anatomique et fonctionnelle médullaire

a. Unité structurale médullaire

Chaque unité élémentaire peut être interprétée comme le groupe de cellules hématopoïétiques en cours de différenciation, adhérant à un réseau de cellules de soutien, situé autour du même capillaire sinusoidal. Les ponctions-aspirations de la moelle osseuse hématopoïétique suggèrent cette organisation par la présence de grains.

b. Macrophages médullaires et îlots érythroblastiques

Les macrophages sont abondants dans la moelle hématopoïétique, souvent proches des sinusoides. Ils phagocytent en particulier les noyaux expulsés par les érythroblastes matures. Ils sont nécessaires à la maturation des cellules

hématopoïétiques, et phagocytent les cellules hématopoïétiques apoptotiques. L'îlot érythroblastique est une structure remarquable de la moelle, formée par un macrophage entouré d'érythroblastes à divers stades de maturation adhérant très fortement à lui-même à la terminaison de leur maturation et à leur énucléation.

c. Compartiments anatomiques médullaires

Les cellules myéloïdes sont juxtaposées dans les compartiments au contact des adipocytes et des cellules du stroma médullaire. Dans les hémopathies myéloïdes, on observe une localisation anormale des précurseurs myéloïdes (myéloblastes, promyélocytes) dans les zones centromédullaires. L'hématopoïèse lymphoïde médullaire se distribue aussi sous forme de compartiments (nodules lymphoïdes). Les envahissements médullaires des lymphomes malins et des syndromes lymphoprolifératifs s'effectuent préférentiellement dans certains de ces compartiments.

4. L'hématopoïèse myéloïde

Elle comporte un double processus :

- Multiplification en vue d'amplifier le nombre de cellules produites à partir d'une petite quantité de progéniteurs. N'occupe que les temps initiaux de l'hématopoïèse médullaire-compartiment de multiplication-
- Différenciation en vue d'aboutir à des cellules circulantes matures. Présent d'emblée, est seul à persister durant les stades du compartiment de maturation.

4.1. Compartiment des cellules souches

Il est caractérisé par ses capacités d'autorenouvellement et d'engagement en différenciation, il ne représente qu'un très faible pourcentage de cellules médullaires. Des cellules souches totipotentes (sélectionnées CD34+) greffées chez l'homme après irradiation corporelle totale reconstituent l'hématopoïèse myéloïde et lymphoïde. La capacité d'autorenouvellement des cellules souches diminue au cours de la vie. Ces cellules souches sont localisées essentiellement au niveau de la moelle. Cependant, on en retrouve aussi un pourcentage très faible dans le sang normal. Le nombre de ces cellules souches périphériques (CSP) augmente de façon importante dans la période de reconstitution hématopoïétique qui suit un traitement aplasiant, en particulier lorsque le patient reçoit, après une chimiothérapie, des facteurs de croissance hématopoïétiques. Ainsi, les greffes de CSP recueillies par cytophérèse ont maintenant des applications thérapeutiques croissantes (autogreffe).

4.2. Compartiment des progéniteurs

Les progéniteurs sont des cellules souches engagées dans des voies de la différenciation. Quantitativement plus important que le précédent, il représente cependant une population restreinte par rapport aux éléments identifiables par le myélogramme : environ un progéniteur pour 1 000 cellules médullaires. Ces cellules se caractérisent par leur capacité de prolifération importante et de différenciation progressive obligatoire. Ils peuvent être mis en évidence grâce aux techniques de culture :

- a. **Les CFU-GEMM** : sont des progéniteurs primitifs formant des colonies mixtes (érythroblastes, de granulocytes, de monocytes et de mégacaryocytes) en 14 à 21 jours de culture. Les cellules de ces cultures sont incapables de générer des colonies secondaires. Elles sont stimulées par l'IL-3 et le GM-CSF
- b. **Les BFU-E et les CFU-GM** : les BFU-E (burst forming unit) sont ainsi nommées du fait de l'aspect éclaté des colonies érythroblastiques formées. BFU-E et CFU-GM sont des progéniteurs d'âge intermédiaire. Ils forment en 10 à 14 jours de culture, des colonies contenant un seul BFU-E ou deux types cellulaires (CFU-GM).

- c. **Les CFU-E, CFU-G et CFU-M** : sont des progéniteurs tardifs, unipotents, formant des colonies en 5 à 7 jours.

4.3. Compartiment des progéniteurs

Les cellules sont alimentées par les progéniteurs les plus tardifs. Ce sont des cellules morphologiquement identifiables sur le myélogramme

4.4. Caractérisation phénotypique des différents compartiments

Les antigènes de surface cellulaire et/ou intracytoplasmiques permettent, par leur présence ou leur absence, de définir le profil antigénique et les propriétés d'une population cellulaire (lignée à laquelle elle apparait, stade de maturation, état de repos ou activé). Cette approche immunologique permet de différencier les 3 grands compartiments de l'hématopoïèse et de préciser, pour une cellule morphologiquement non identifiable, sa lignée d'appartenance et son degré de différenciation.

- Le compartiment des cellules souches exprime la molécule CD34.
- Dans le compartiment des progéniteurs, l'expression du CD34 diminue progressivement.

4.5. Aspects morphologiques

Il est défini au mieux après coloration panoptique (May-Grünwald-Giemsa). Les cellules les plus jeunes sont caractérisées par leur grande taille, leur rapport nucléocytoplasmique élevé, la présence de nucléoles, une chromatine peu condensée, un cytoplasme riche en ergastoplasme et fortement basophile après coloration panoptique. Les cellules les plus mures ont une définition inverse et comportent, en outre, des formations cytoplasmiques spécifiques : secondaires (neutrophiles, éosinophiles ou basophiles selon les lignées) pour les granulocytes, granulations azurphiles pour les mégacaryocytes.

5. Régulation de l'hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus dynamique soumis à régulation : seules les cellules sanguines différenciées et matures sont mises en circulation, à des taux en rapport avec les besoins. La régulation de l'hématopoïèse résulte de l'action de cytokines.

5.1. Facteurs humoraux de régulation

Elle est assurée par certaines cytokines, polypeptides glycosés régulant la prolifération, la différenciation et la fonction des cellules sanguines. Certaines sont produites par recombinaison génétique et utilisées en thérapeutique.

Les cellules cibles sont caractérisées par des récepteurs spécifiques pour chacun des facteurs ou ligands qui, en se fixant sur la membrane cellulaire, vont déclencher des signaux de transcription entraînant une série d'évènements intracellulaires. Les cytokines actives sur des cellules sanguines se classent schématiquement en trois catégories :

- **Les facteurs de croissance hématopoïétiques ou CSF** : sont caractérisés par leur capacité de provoquer la formation de colonies à partir de cellules souches (Colony Stimulating Factor). Cette catégorie, comprend l'érythropoïétine (EPO), le TPO ou MGDF (megacaryocyte growth and differentiation factor) et l'interleukine 11 (IL-11) qui stimulent la production mégacaryocytoplaquettaire, le GM-CSF, le G-CSF, le M-CSF et l'interleukine 3 (IL-3). Le kit-ligand ou SCF (Stem Cell Factor) et le FLT3 ligand agissent sur la cellule souche totipotente en synergie avec d'autres facteurs 'EPO, GM et G-CSF, IL-1, IL-6 et IL-7).
- **Les interleukines non CSF** : régulent la prolifération-en synergie avec les facteurs de croissance -, la différenciation et la fonction des cellules sanguines. Elles comportent actuellement des interleukines de 1 à 18, sauf l'IL-3 classée, on l'a vu,

avec des facteurs de croissance. L'IL-5 stimule l'éosinophilopoïèse et l'IL-6 la mégacaryocytopoïèse.

- **Enfin, d'autres facteurs** : sont principalement inhibiteurs dont l'interféron γ , le TNF- α et le TGF- β .

5.2. La régulation de l'hématopoïèse (Figure N°2)

A l'état de base, il existe une production constitutive de kit-ligand, de G-CSF et M-CSF par les microblastes. Après stimulation, les macrophages, fibroblastes et cellules endothéliales sécrètent du GM-CSF, G-CSF, M-CSF, de l'IL-1 et de l'IL-6. Les monocytes-macrophages par leur production d'IL-1, et aussi de TNF, stimulent les fibroblastes, les cellules endothéliales et les lymphocytes T. Ces derniers produisent du GM-CSF, de l'IL-3, de l'interféron γ , de l'IL-5 et de l'IL-6, les 3 premières stimulant à leur tour les monocytes-macrophages.

- L'érythropoïétine (EPO)** : seule cytokine qui peut être assimilée à une hormone, avec une production quasi exclusive par les cellules péritubulaires rénales, et une spécificité étroite de la cible, limitée pratiquement aux CFU-E et BFU-E. C'est une glycoprotéine de 33 kD. La production de l'érythropoïétine est contrôlée par l'oxygénation (PaO₂) tissulaire : elle augmente en cas d'hypoxie, diminue en cas d'insuffisance rénale. L'érythropoïèse agit essentiellement en permettant la prolifération et la différenciation des progéniteurs érythroblastiques. Elle augmente donc la proportion et le nombre total d'érythroblastes médullaires. L'érythropoïétine accélère la synthèse d'hémoglobine dans les érythroblastes, raccourcit leur temps de maturation et entraîne une libération précoce des réticulocytes. Le taux d'érythropoïétine est augmenté de façon réactionnelle dans presque toutes les anémies. Une anémie non régénérative-sans augmentation du taux des réticulocytes- traduit soit une insuffisance de production (c'est le cas de l'anémie de l'insuffisance rénale), soit une incapacité de la moelle à répondre à la stimulation par l'érythropoïétine. Le dosage de l'EPO dans le sérum ou l'urine, par méthode radio-immunologique peut être utile dans le diagnostic polyglobulies : les taux sont élevés dans les polyglobulies secondaires à une anoxie ou une hyperproduction d'origine tumorale (notamment cancer du rein). Ils sont diminués dans la polyglobulie primitive (maladie de Vaquez). Par ailleurs, d'autres facteurs humoraux (androgènes, somathormone, thyroxine), vitaminiques (vitamine B12, folates, vitamine B6) ou minéraux (fer, cobalt, zinc) participent à l'érythropoïèse.
- G-CSF, GM-CSF, IL-3 et TPO (MGDF)** : Le G-CSF stimule quasi exclusivement la granulopoïèse neutrophile. Il agit aussi à un stade très précoce de la myélopoïèse, en conjonction avec le SCF, l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-11, en favorisant l'engagement de la cellule souche totipotente vers la différenciation myéloïde.
- Le GM-CSF** : agissant sur les CFU-GM, stimule de la même façon la lignée granuleuse, et également l'éosinophilogénèse, la monocytopoïèse et, à un moindre degré, la thrombopoïèse. Il active en outre la fonction des monocytes-macrophages. L'IL-3 a une activité moins puissante mais encore plus étendue, pouvant stimuler l'érythropoïèse et la lymphopoïèse.
- La thrombopoïétine (TPO)** : est un facteur de croissance humoral partageant des analogies structurales avec l'EPO. Elle favorise, en aval du GM-CSF et de l'IL-3, la prolifération des progéniteurs mégacaryocytaires et provoque la polyploïdisation et la différenciation des mégacaryocytes jusqu'à la formation des plaquettes. Sa concentration plasmatique est régulée par le taux de plaquettes sanguines.
- Applications thérapeutiques des cytokines**
 - La meilleure application de l'érythropoïétine est l'anémie de l'insuffisance rénale chronique. L'érythropoïétine peut être efficace dans certaines anémies

inflammatoires sévères, au cours des polyarthrites rhumatoïdes graves ou de cancers, en cas d'échec des traitements étiologiques.

- Le G-CSF est efficace dans le traitement des neutropénies sévères, congénitales chroniques ou cycliques, syndrome de Felty ; il permet de réduire la durée et la morbidité des neutropénies toxiques, notamment postchimiothérapiques. Il est couramment utilisé aussi pour mobiliser les cellules souches circulantes en vue de les recueillir pour usage thérapeutique.
- Le GM-CSF est utilisé également dans le traitement des neutropénies idiopathiques ou post-chimiothérapiques. Son action sur les lignées rouges et plaquettaires est inconstante et limitée. Il peut également être utilisé pour mobiliser les cellules souches circulantes.

6. Exploration fonctionnelle de la moelle osseuse

6.1. Hémogramme

C'est la méthode la plus courante et la plus simple d'appréciation de la fonction médullaire :

- Une insuffisance médullaire est bien peu probable chez un sujet présentant un hémogramme normal.
- Une cytopénie sanguine, portant sur une, deux ou trois lignées myéloïdes peut être due soit à un raccourcissement de la durée du séjour intravasculaire, soit à une insuffisance de production médullaire.
- Une hypercytose est toujours due-sauf fausse polyglobulie par hémococoncentration- à une hyperproduction médullaire car il n'y a pas d'allongement de la durée de vie des éléments.
- Le passage sanguin de nombreux éléments immatures-érythroblastes ou myélocytes, voire promyélocytes et myéloblastes- traduit une pathologie médullaire grave : myélofibrose, métastases ostéo-médullaires, lymphome, syndrome myéloprolifératif. A noter que les érythroblastes circulants sont comptés comme des leucocytes, la numération de ces derniers étant en fait une numération des éléments nucléés. Les érythroblastes sont ensuite décomptés lors de l'établissement de la formule sanguine.

6.2. Taux de réticulocytes

Sa mesure permet d'apprécier de façon précise la production médullaire et doit compléter l'hémogramme devant toute anémie, pancytopenie ou suspicion d'hyperhémolyse (baisse de l'haptoglobine, augmentation de la bilirubine libre). Le résultat doit être apprécié en valeur absolue.

6.3. Ponction médullaire

On la réalise sous anesthésie locale par ponction sternale, iliaque ou, chez le nourrisson, de la tubérosité tibiale antérieure. L'aspiration ramène quelques gouttes de suc médullaire, forcément mélangé à un peu de sang. Les grains de moelle sont étalés par frottis et sont colorés par May-Grünwald-Giemsa. La lecture doit toujours comporter un premier temps d'observation à un faible grossissement : appréciation de la richesse médullaire par comptage des mégacaryocytes (de 0 à +++). Le pourcentage des autres cellules médullaires est donné et les anomalies morphologiques sont analysées. Un myélogramme hypocellulaire et la formule est trop semblable à celle du sang-pourcentage excessifs de polynucléaires et de lymphocytes- est suspect d'être trop dilué de sang et doit être refait et contrôlé par biopsie médullaire. La ponction médullaire donne un résultat rapide, en 1 à 2 heures, après coloration panoptique. Elle permet aussi certaines investigations : coloration de Perls pour le fer non hémique, colorations cytochimiques ou marqueurs

immunologiques pour caractériser une population cellulaire anormale, étude cytogénétique, culture des progéniteurs hématopoïétiques, analyses en biologie moléculaire, etc. Elle est indiquée dans la plupart des anomalies hématologiques sévères. C'est cependant une épreuve un peu douloureuse.

6.4. Biopsie de la moelle

Après préparation des coupes histologiques, permet de préciser la cellularité et d'étudier la trame de réticuline (recherche de myélofibrose). La composition cellulaire est également précisée, avec recherche de cellules anormales et appréciation de leur répartition histologique. L'interprétation des biopsies médullaires bénéficie de l'immunohistologie. Elle donne un résultat plus tardif, après quelques jours. Elle précise mieux que la ponction la cellularité médullaire et est indispensable en cas de ponction hypocellulaire ou « blanche », due possiblement à une myélofibrose. Elle analyse des détails cytologiques moins bien que l'étude du frottis par ponction-aspiration et ne la remplace pas dans le diagnostic des anémies mégaloblastiques ou des leucémies. En revanche, elle la complète souvent et permet de préciser les rapports topographiques entre les cellules. Elle est indiquée en cas de suspicion de syndrome myéloprolifératif, de myélofibrose, d'aplasie médullaire, de lymphomes malins ou de carcinomes- à la recherche de localisations médullaires-et, dans des cas de splénomégalie ou de fièvre d'origine indéterminée.

L'inconvénient des deux est qu'elles ne sont pas toujours représentatives de l'ensemble de la moelle. Les seules contre-indications sont l'hémophilie et les syndromes hémorragiques par défibrination ou grande hyperplaquettose. Les traitements anticoagulants doivent être passagèrement suspendus avant biopsie médullaire.

6.5. Autres investigations

Les études isotopiques (scintigraphie, ferrocinétiques), cytogénétiques ou fonctionnelles (cultures de progéniteurs notamment granulo-monocytaires) ont des indications limitées à certaines affections de la moelle, et qui sont du ressort des spécialistes.

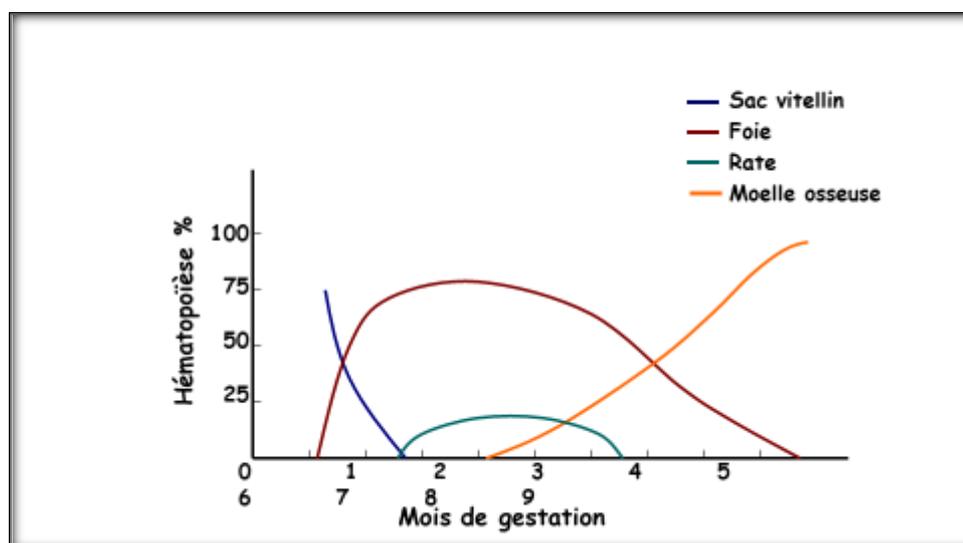


Figure N°1 . Principaux stades de l'hématopoïèse au cours du développement embryonnaire

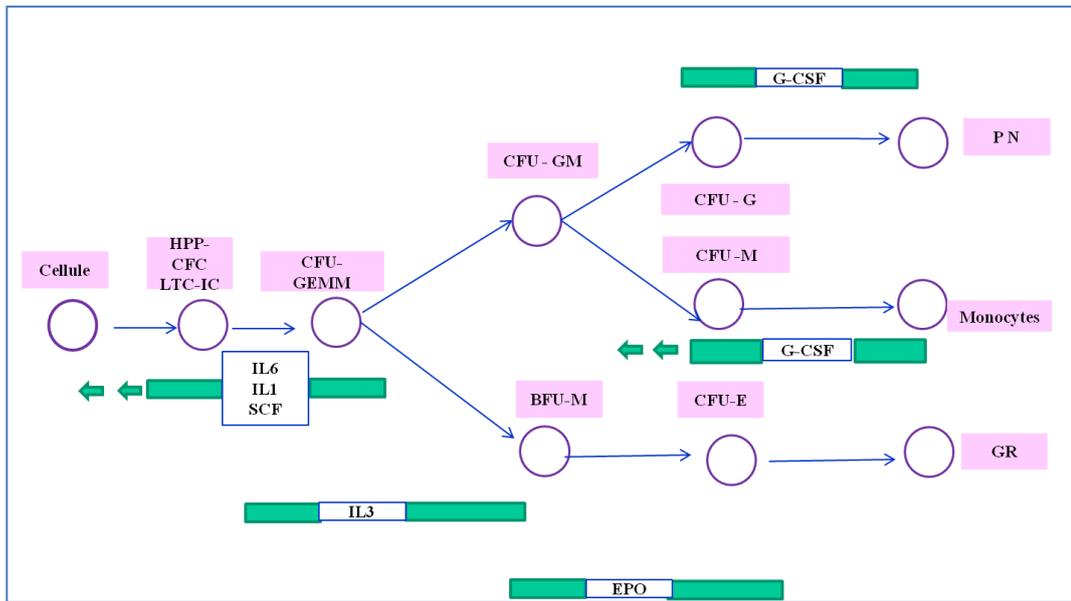


Figure N°2. Compartiments de l'hématopoïèse.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

1. L'hématopoïèse :

- A. Apparaît très précocement dans la vie embryonnaire
- B. Acquiert un aspect adulte dès l'âge d'un an
- C. Aboutit au renouvellement continu et régulé des cellules sanguines
- D. Est pathologique chez l'adulte si elle est située dans le foie et la rate
- E. Représente plus de 15% du poids du corps

2. Chez l'adulte, l'érythropoïèse se fait dans :

- A. Le foie
- B. La rate
- C. La moelle osseuse
- D. Le foie et la rate
- E. Le foie, la rate et la moelle osseuse

3. Sur le myélogramme, la répartition des lignées est la suivante :

- A. Lignée granuleuse : 25 %
- B. Lignée érythroblastique : 60 %
- C. Lymphocytes : 50 %, à l'âge de 1 mois
- D. Lymphocytes : 15 %, à l'âge adulte
- E. Plasmocytes : 2 %

4. Le compartiment des cellules souches est caractérisé par :

- A. Autorenewement
- B. Capacité d'engagement en différenciation
- C. Très faible pourcentage des cellules médullaires
- D. Un pourcentage diminué en période de reconstitution hématopoïétique
- E. Sont identifiables morphologiquement

5. Le myélogramme :

- A. Peut être pratiqué en urgence
- B. Permet une analyse quantitative des cellules médullaires
- C. Permet une analyse qualitative des cellules médullaires
- D. De cellularité pauvre, impose la pratique d'une biopsie médullaire
- E. Peut être remplacé par une biopsie médullaire

Réponses

QCM 1 : A, C, D

QCM 2 : C

QCM 3 : C, D, E

QCM 4 : A, B, C

QCM 5 : A, B, C, D

LES ELEMENTS FIGURES DU SANG

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	65
1. INTRODUCTION	66
2. LES ELEMENTS FIGURES DU SANG.....	66
2.1. Catégories et nature des éléments figurés du sang	66
2.2. Catégories et fonctions des éléments figurés du sang	66
3. L'HEMOGRAMME	67
2.1. Définition.....	67
2.2. Le prélèvement sanguin.....	67
2.3. Les méthodes de mesure	67
4. LA MORPHOLOGIE DES ELEMENTS FIGURES DU SANG	71
4.1. Les polynucléaires ou granulocytes	71
5. LES RETICULOCYTES.....	72
6. LES VALEURS NORMALES DES ELEMENTS SANGUINS	73
7. DUREE DE VIE ET DEVENIR DES ELEMENTS FIGURES DU SANG	
73	
7.1. Durée de vie des hématies	74
7.2. Durée de vie des leucocytes	74
7.3. Durée de vie des plaquettes	74
8. CONCLUSION.....	74
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	75

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Enumérer et décrire les différents éléments figurés du sang ainsi que leurs fonctions principales.
2. Définir les constantes érythrocytaires et préciser leurs valeurs normales
3. Détailler les calculs pour déterminer les constantes érythrocytaires selon la technique de l'hémogramme
4. Justifier l'intérêt de la numération des réticulocytes dans l'hémogramme, préciser leur taux normaux et leur signification diagnostique
5. Préciser les taux normaux des constantes érythrocytaires, plaquettaires et des différentes catégories de leucocytes.
6. Préciser la durée de vie des différents éléments figurés du sang

1. INTRODUCTION

Le sang est constitué de différents éléments figurés circulants en suspension dans le plasma. Il s'agit d'un reflet facilement accessible des perturbations hématologiques qui se déroulent dans des sites peu accessibles.

2. LES ELEMENTS FIGURES DU SANG

2.1. Catégories et nature des éléments figurés du sang

Il existe 3 catégories d'éléments. Ils sont de nature cellulaire :

- Les globules rouges ou hématies ou érythrocytes : cellule anucléée
- Les globules blancs ou leucocytes : cellule nucléée
- Les plaquettes ou thrombocytes : fragment de cytoplasme

2.2. Catégories et fonctions des éléments figurés du sang

- 2.1.1. Les globules rouges ou hématies ou érythrocytes : exercent la fonction de transporteurs d'oxygène dans tout l'organisme grâce à l'hémoglobine qui les sature. Leur forme physiologique est en disque biconcave, elle leur procure une surface maximale d'échange et une déformabilité optimale. Elles sont vitales pour l'hématose tissulaire.
- 2.1.2. Les globules blancs ou leucocytes : regroupent toutes les cellules granulaires, monocytaires et lymphocytaires. Ils interviennent dans la lutte contre les agents microbiens et la réaction immunitaire.
 - b. Les polynucléaires neutrophiles : exercent une fonction antibactérienne par leurs propriétés de phagocytose et de bactéricidie au sein des tissus infectés.
 - c. Les polynucléaires éosinophiles : jouent un rôle dans la défense antiparasitaire, l'allergie et l'anaphylaxie.
 - d. Les polynucléaires basophiles et leurs formes fixes cellulaires (mastocytes) : exercent surtout une fonction de régulation de l'inflammation par libération de substances (histamine, sérotonine, héparine) qui augmentent la perméabilité vasculaire au niveau des sites d'action antigéniques, régulant ainsi le flux des autres cellules inflammatoires.
 - e. Les monocytes : interviennent dans le processus de défense contre les bactéries, les champignons, les virus et les substances étrangères. Leur fonction est principalement la phagocytose extravasculaire. Ils dégradent également les cellules sénescents, tumorales... Dans les tissus, ils sont capables de se transformer en histiocytes, en macrophages des endothéliums, en cellules épithéliales et en cellules géantes à corps étranger (cellules géantes de Langhans), etc.
 - f. Les lymphocytes : se distinguent selon leurs fonctions en :
 - i. Lymphocytes T : thymo-dépendantes à médiation cellulaire (70%). On distingue les cellules T auxiliaires (ou T helper) et les cellules T suppressives/cytotoxiques.
 - ii. Lymphocytes B : à médiation humorale (20%). Ils évoluent en plasmocytes qui assurent la sécrétion des immunoglobulines (immunité humorale).
- 2.1.3. Les plaquettes ou thrombocytes : jouent un rôle fondamental dans l'hémostase par la formation des agrégats indispensables à la fermeture des brèches vasculaire et la libération des facteurs procoagulants contenus dans leur granules.

3. L'HEMOGRAMME

2.1. Définition

L'hémogramme, encore appelé numération (formule) sanguine (NFS), est une technique d'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang réalisée sur un échantillon de sang avec mesure de l'hémoglobine.

2.2. Le prélèvement sanguin

Le prélèvement veineux est le plus utilisé. Après ponction veineuse franche, le sang est recueilli dans un tube avec de l'EDTA, correctement rempli et agité. L'EDTA cristallisé dans le tube est un chélateur du calcium qui bloque toute coagulation en préservant les proportions et l'aspect cellulaire.

Le prélèvement devrait toujours être pratiqué au même moment de la journée, si possible après un jeûne de huit heures, les résultats pouvant être influencés par des variations circadiennes et par l'alimentation. L'idéal serait d'observer un décubitus d'une demi-heure avant le prélèvement, ce qui n'est réalisable qu'en cas d'hospitalisation. Le patient ambulatoire sera prélevé en position assise.

Le sang capillaire prélevé au niveau de la pulpe digitale, le lobe de l'oreille ou le talon chez le nourrisson, peut être utilisé. Le site de prélèvement est d'abord nettoyé sans pression excessive à l'alcool à 70 %. Une piqure cutanée franche est effectuée à l'aide d'une lancette stérile à usage unique. La première goutte est rejetée en raison de possibles contaminations, les gouttes suivantes sont recueillies dans les pipettes (exp : pipette de Potain, Inopette®) ; il faut éviter toute compression du lieu de prélèvement pouvant entraîner des modifications de la composition cellulaire du sang.

2.3. Les méthodes de mesure

La numération des différents éléments figurés du sang est réalisée par des appareils électroniques de plus en plus perfectionnés. Néanmoins, la méthode **manuelle** reste la méthode **de référence**.

Les paramètres sont soit mesurés soit calculés selon que la technique est automatique ou manuelle.

L'hémogramme comprend une étude quantitative et une étude qualitative. L'étude quantitative comprend la numération des globules rouges, globules blancs et plaquettes et la détermination de taux d'hémoglobine et de l'hématocrite. L'étude qualitative comprend l'établissement de la formule sanguine, l'observation de la morphologie des éléments et l'appréciation de la quantité des plaquettes sur frottis sanguin.

2.3.1. Les méthodes automatiques

Les dernières générations d'automates assurent une analyse rapide. Ils sont fiables sous réserve d'étalonnages et de précautions (contrôles de qualité quotidiens, ...).

Les cellules en suspension diluée passent une à une dans un microtube où ils seront comptés et un certain nombre de leurs caractéristiques analysées.

Pour le comptage et l'analyse, il existe 2 grands principes :

- a. La variation d'impédance.
- b. La détection en flux continu. (Figure 1).

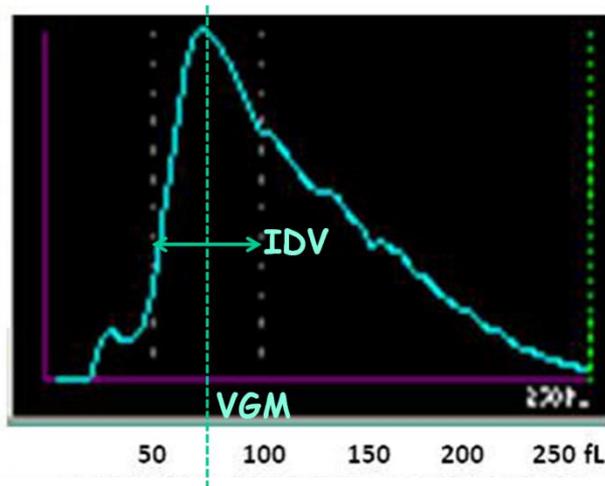


Figure 1 : Histogrammes des volumes et indice de distribution (IDV).

L'équipement informatique (logiciel), permet l'intégration des données et leur visualisation sous forme de populations cellulaires (figure 2).

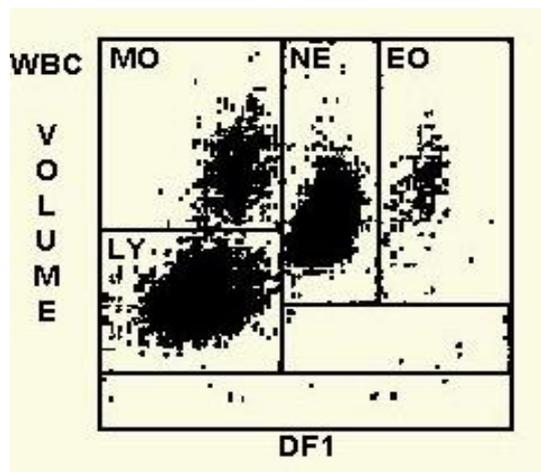


Figure 2 : Populations cellulaires telles que éditées en flux continu (MO=monocytes, NE = PNN, EO=éosinophiles, LY=lymphocytes).

2.3.2. La méthode manuelle

C'est la technique traditionnelle et c'est encore la technique de référence. Elle est précieuse dans les petits laboratoires et permet les vérifications en cas d'anomalies détectées par les automates (alarmes).

Le taux d'hémoglobine est déterminé par technique de spectrophotométrie à 540 nm (hémoglobinomètre). Après étalonnage de l'appareil, le sang est hémolysé pour être transformé en cyanméthémoglobine grâce au réactif de Drabkin. Comme il s'agit d'une méthode optique, la mesure peut être faussée par excès si opalescence du plasma ainsi que celle des paramètres qui en dépendent.

Ensuite, pour assurer les numérations des globules blancs et rouges, une suspension de sang de dilution connue est aspirée dans une pipette graduée (pipette de Potin, une spéciale pour les globules rouges et une spéciale pour les globules blancs, figure 3). A l'aide de la pipette, la dilution de sang est déposée dans une chambre de comptage micrométrique encore appelée hématimètre ou cellule de comptage (cellule de Malassez, figure 4). Il s'agit d'une cellule quadrillée déposée sous

le microscope pour le décompte. Le facteur de dilution ainsi que le volume de la chambre sont pris en considération dans la détermination du taux des globules.

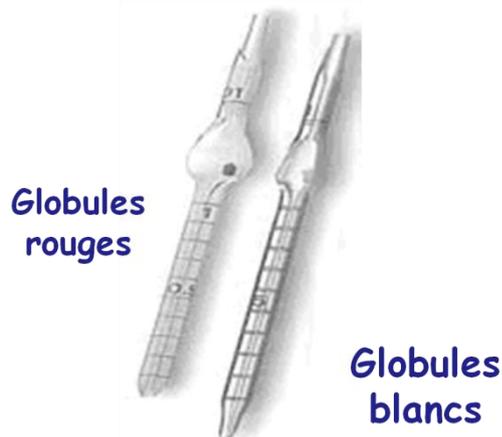


Figure 3 : Pipettes de Potain

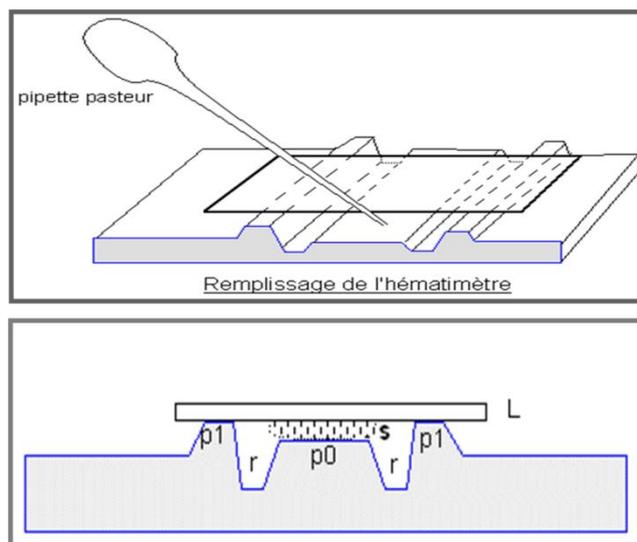


Figure 4 : Cellule de Malassez

2.3.3. Données de l'hémogramme et constantes érythrocytaires, paramètres calculés/mesurés

- Les particules : sont comptées ; taux d'hématies, de leucocytes et de plaquettes / litre.
- L'hémoglobine (Hb): est mesurée
- En automatique, les volumes des particules sont mesurés : volume globulaire moyen (VGM), volume plaquettaire moyen (VPM) et la répartition des volumes analysée par l'indice de distribution des volumes (IDV).
- L'hématocrite (Ht) : C'est le volume relatif des globules rouges dans un volume donné de sang total.

En manuel, il est mesuré après centrifugation d'un microtube de sang prélevé sur anticoagulant : $Ht = \text{hauteur du culot érythrocytaire} / \text{hauteur du sang total}$.

En automatique, il est calculé : $Ht = \text{nombre de globules rouges} * VGM$. Les résultats est de 5 à 10 % inférieur à l'hématocrite centrifugé.

- Le volume globulaire moyen (VGM) : C'est le volume moyen d'un globule rouge. En manuel, $VGM = Ht / \text{taux de Globules rouges}$

En automatique, le VGM est mesuré par intégration des volumes individuels des hématies.

La valeur normale du VGM est de 90 μ^3 ou fl (femtolitre) avec des extrêmes de 80 à 100.

Une anémie est dite :

- normocytaire : si le VGM est normal (entre 80 et 100 fl),
- microcytaire : si le VGM est < 80 fl
- macrocytaire : si le VGM est > 100 fl.

Parfois, le VGM seul est incapable de traduire l'hétérogénéité d'une population. D'où l'intérêt de l'indice de distribution (normalement < 15%) et du frottis de sang (fig 1).

c. La Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) :

C'est la fraction du globule rouge constitué d'hémoglobine. Elle varie généralement dans le même sens que le VGM.

TCMH = taux d'hémoglobine / taux de globules rouges.

La valeur normale est de 30 +/- 2 pg.

d. La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) :

CCMH = taux d'hémoglobine / hématocrite.

Valeurs normales : En manuel : CCMH = 30 à 40 % (ou g/dL).

En automatique : CCMH = 32 à 36 % (ou g/dL).

La CCMH n'est pratiquement jamais supérieure à la normale. Sa diminution définit l'hypochromie.

2.3.4. Le frottis de sang.

L'étude la morphologie des éléments figurés du sang est capitale pour établissement manuel de la formule sanguine et dans le cas des numérations anormales et des alarmes (Anomalies quantitative ou qualitative détectées par l'automate).

Elle est réalisée au laboratoire par étalement d'une goutte de sang (échantillon de sang veineux anticoagulé ou prélèvement capillaire au bout du doigt) sur une lame de verre, coloration panoptique au May-Grunwal-Giemsa (MGG) et lecture au microscope.

Les structures acidophiles (chromatique nucléaire/ADN) sont colorées en rouge, rose ou orange. Les formations basophiles (cytoplasme/ARN) sont colorées en bleu clair, foncé, vert ou pourpre.

Le frottis de sang doit être ni trop fin ni trop épais, la zone de lecture est située où la couche est monocellulaire. Le séchage doit être spontané à l'air et le sang utilisé doit être frais.

Le frottis de sang permet :

- d'étudier la morphologie des globules rouges ;
- d'établir ou de vérifier la formule leucocytaire,
- d'appréciation des anomalies morphologiques des hématies, plaquettes et l'identification des cellules pathologiques (blastes, myélémie, lymphocytes anormaux). Le contrôle morphologique des cellules sanguines doit être pratiqué par une personne expérimentée sur tous les échantillons avec alarme, ou en dehors des normes ou cliniquement indiqué.
- d'apprécier la taille et le contenu des plaquettes, ainsi que la présence d'éventuels agrégats permettant de suspecter une fausse thrombopénie à l'EDTA. Dans ce cas, le recours au comptage manuel après prélèvement sur Inopette® (figure 5) prend toute sont importance.



Figure 5 : Inopette®

NB : Après identification et comptage des cellules, la formule leucocytaire doit toujours être rapportée à la numération leucocytaire de façon à établir le taux de chaque catégorie d'élément par unité de volume sanguin. C'est ainsi, que 80% de PNN et 10% de lymphocytes rapportés à 3000 leucocytes / μ l signifient 2400 PNN et 300 lymphocytes / μ l, donc une lymphopénie et non une polynucléose.

4. LA MORPHOLOGIE DES ELEMENTS FIGURES DU SANG

L'étude morphologique des éléments figurés du sang est effectuée sur frottis de sang. La formule sanguine est le pourcentage des chaque catégorie de leucocytes est effectué sur 100 cellules.

4.1. Les polynucléaires ou granulocytes

Leur dénomination rappelle la forme de leur noyau segmenté en lobes unis par des ponts chromatinien filiformes et un cytoplasme à granulations spécifiques.

Le polynucléaire neutrophile (PNN) : C'est une cellule arrondie faisant 10 à 14 μ m de diamètre. Le noyau possède le plus souvent 3 lobes à chromatine dense liés par de fins ponts chromatinien. Le cytoplasme est assez abondant, il contient des granulations neutrophiles brunes de petite taille et spécifiques jouant un rôle essentiel dans la bactéricidie (phagocytose).

Le polynucléaire éosinophile (PNE) : est un peu plus grands que le PNN, de diamètre de 12 à 15 μ m. Le noyau à deux lobes arrondis est caractéristique. Le cytoplasme est faiblement acidophile, bourré de grosses granulations sphériques régulières, orangées et assez nombreuses à l'intérieur du cytoplasme. Dans les hyperéosinophilies, une augmentation du nombre de lobes nucléaires est observée ainsi qu'un certain degré de dégranulation.

Le polynucléaire basophile (PNB) : est une cellule de 10 à 14 μ m de diamètre à noyau assez volumineux incisé. Le cytoplasme et le noyau sont recouverts de grosses granulations irrégulières, en éclat, violacées et noirâtres.

Les lymphocytes : Ce sont des cellules à noyau arrondi ou ovoïde, à chromatine mal dessinée, ouatée, sans nucléole visible. Le cytoplasme plus ou moins basophile, est d'abondance variable. Dans le petit lymphocyte (7 à 9 μ m, à peine plus grand qu'une hématie), il est réduit à un liséré périnucléaire, dans le grand lymphocyte (9 à 15 μ m), il est plus abondant et pouvant contenir quelques granulations azurophiles rouge vif ou violettes.

Les lymphocytes ne sont pas différenciés par leur morphologie hormis les Grands Lymphocytes à Ggrains (LGL), qui correspondent à de grands lymphocytes T

cytotoxiques et des cellules NK (natural killer) observées dans les hyperlymphocytoses réactionnelles d'origine virale.

Les monocytes : Ce sont de grandes cellules (15 à 22 μm) de diamètre. Le noyau de forme variée, rond ou plus souvent réniforme, lobulé, ou découpé en E ou en M. La chromatine fine, souvent peignée ou plissurée. Le cytoplasme abondant, faiblement basophile, contient une poussière de fines granulations azurophiles. Ce sont les monocytes qui posent le plus de problèmes d'identification sur les frottis.

Les hématies : Elles ont un aspect de disque de 7 à 8 μm de diamètre. Elles sont colorées en beige orangé par le MGG du fait de leur charge en hémoglobine. Leur forme aplatie biconcave les fait apparaître plus pâles au centre qu'à la périphérie. L'observation des hématies sur frottis doit toujours être pratiquée en cas d'anémie ou d'anomalie des paramètres érythrocytaires.

L'analyse doit porter sur :

- ✓ La taille : Elle confirme les anomalies des constantes érythrocytaires : macro, micro ou anisocytose dans les anémies dimorphes où le VGM reste normal.
- ✓ La colorabilité : pour apprécier la normochromie, une hypochromie (teinte décolorée) ou une polychromatophilie (teinte violacée du globule).
- ✓ La forme : pour mettre en évidence une poïkilocytose ou une anomalie de forme plus spécifique telles une drépanocytose, une ovalocytose ou elliptocytose (héréditaire), une sphérocytose, une schizocytose (hémolyse mécanique), une dacryocytose (hématies en larmes), une acanthocytose (Alipoprotéïnémie, cirrhose), hématies cibles (anomalies de l'hémoglobine), microsphérocytose (maladie de Minkowski-Chauffard).

Les plaquettes : Ce sont des petits éléments de 2 à 3 μm , légèrement colorées en pourpre et contenant une dizaine de granulations azurophiles dans leur cytoplasme dépourvu de noyau. Elles forment des amas dans les frottis de sang prélevés sans anticoagulant (bon indicateur de leur fonction), mais sont isolées et dispersées après recueil sur EDTA. Elles doivent être attentivement observées et évaluées quantitativement pour reconnaître certaines anomalies morphologiques : grandes plaquettes, plaquettes géantes, et corriger certaines erreurs telles que dans le cas des pseudothrombopénies à l'EDTA ou au citrate (présence d'agglutinat plaquettaire).

5. LES RETICULOCYTES

L'hémogramme doit être complété, en cas d'anémie par une numération des réticulocytes.

Le réticulocyte est une hématie jeune ayant perdu son noyau et gardant pendant 24 à 48 heures une charge en ARN sous forme d'un réticulum endoplasmique. Il reste 1 à 2 jours dans la moelle et 1 à 2 jours dans le sang. Les structures permettant de différencier un réticulocyte d'une hématie mature ne sont pas mises en évidence par les colorations normales. C'est pourquoi, la prescription de numération de réticulocytes se fait en sus de celle de l'hémogramme standard. En manuel, la numération des réticulocytes est effectuée sur frottis de sang après coloration spéciale (le bleu de crésyl brillant) qui permet de mettre évidence le réseau granulo-filamenteux d'ARN.

En automatique, le marquage de l'ARN est effectué par des fluorochromes (détection en flux continu). La technique est rapide, facile, précise mais plus coûteuse.

Le pourcentage des réticulocytes par rapports aux hématies mures (1 000) doit obligatoirement être converti en taux/unité de volume pour une interprétation correcte.

C'est un indice fidèle de la production médullaire. Il est normalement de 1 % soit $50 \pm 25 \cdot 10^9/L$.

Une anémie est dite :

- Régénérative, si le taux de réticulocytes $> 120 (100-150) \cdot 10^9/L$.
- Arégénérative, si le taux de réticulocytes $< 25 \cdot 10^9/L$ (érythropoïèse défailante).

6. LES VALEURS NORMALES DES ELEMENTS SANGUINS

Les valeurs normales sont données dans les tableaux 1 et 2. Les taux des cellules, ht et Hb ont une dispersion Gaussienne dans la population normale. Ils sont l'objet de variations physiologiques selon le sexe, l'ethnie (taux des PNN relativement bas chez les africains), l'état physiologique (pendant la grossesse, les leucocytes sont augmentés alors que le taux d'hématies, l'Hb et l'Ht sont diminués). En Tunisie, les valeurs chez une population saine de donneurs de sang semblent être plus basses qu'en Europe notamment pour les taux de plaquettes et d'hémoglobine. (Tableau 1 et 2)

Tableau 1 : Valeurs normales de la numération globulaire.

	Homme	Femme	Nouveau-né	Enfant (<10ans)
Hématies ($10^{12} /l$)	4,2 - 5,8	3,8 – 5,2	5,5 - 6	3,2 - 4
Hématocrite (%)	39 - 49	35 - 45	50 - 64	32 - 40
Hémoglobine (g/dL)	13 - 17	12 - 16	14 - 19,5	10 - 13
Leucocytes ($10^9 /l$)	4 - 11	4 - 11	12 - 25	5 - 11
Plaquettes ($10^9 /l$)	150-400	150-400	150- 400	150-400

Tableau 2 : Taux normaux des différentes catégories de leucocytes.

	Unités	Adulte	Nouveau-né	Enfant (4 ans*)
Polynucléaires neutrophiles	%	50 - 85	80	30
	103/ μ L	1,7 - 7,0		
Polynucléaires éosinophiles	%	1 – 4	Id	Id
	103/ μ L	0,05 – 0,6		
Polynucléaires basophiles	%	0 – 1	Id	Id
	103/ μ L	0,01 – 0,1		
Lymphocytes	%	20 – 40	40	60
	103/ μ L	1,2 – 4		
Monocytes	%	2 – 10	Id	Id
	103/ μ L	0,2 – 0,8		

* Les valeurs normales de l'enfant se rapprochent progressivement de celles de l'adulte. A dix ans, il y environ autant de polynucléaires que de lymphocytes.

7. DUREE DE VIE ET DEVENIR DES ELEMENTS FIGURES DU SANG

La durée de vie des éléments figurés du sang a été calculée avec précision après marquage par des radioéléments.

7.1. Durée de vie des hématies

La durée de vie des hématies est en moyenne de 110 +/-10 jours.

En pratique clinique, la durée de vie des hématies est mesurée après marquage in vitro par le radiochrome (^{51}Cr) et réinjection intraveineuse. La demi-vie des hématies ($T_{1/2}$) est dans ces conditions de 28+/-4jours. Cette durée est sensiblement plus courte que celle attendue car on marque par cette épreuve des hématies de tous âges, dont la majorité d'âge moyen. Il faut tenir compte, en outre, d'un certain degré d'élytion ou perte de marqueur, de sa décroissance physique. Les hématies vieillies sont détruites par les macrophages de la moelle, du foie et de la rate.

7.2. Durée de vie des leucocytes

7.2.1. Granulocytes

Seule la cinétique des granulocytes neutrophiles est connue, bien qu'imparfaitement. La demi-vie dans la circulation est très courte, de l'ordre de 6 heures avec la DF^{32}P et 18 heures avec le ^{111}In . La décroissance après marquage radioactif suite à une double exponentielle : la première à pente très rapide correspond à l'équilibre entre deux pools de polynucléaires intravasculaires, l'un proprement circulant et l'autre « marginal », accolé entre à l'endothélium. Ces deux pools d'importance égale, sont en équilibre constant, mais l'hémogramme ne compte que les polynucléaires du pool circulant. Les polynucléaires qui quittent la circulation passent dans les tissus, où ils accomplissent leur fonction, essentiellement phagocytaire et antibactérienne, avant d'être détruits.

7.2.2. Monocytes

Après un transit de 20 à 40 heures, ils passent dans les tissus et se transforment en macrophages, grandes cellules à cytoplasme abondant et mal limité, pouvant contenir des particules phagocytées. Les macrophages sont présents dans de nombreux tissus mésenchymateux : moelle osseuse, foie (cellules de Kuppfer), rate, ganglions lymphatiques, derme, poumons, etc...

7.2.3. Lymphocytes

La durée de vie des lymphocytes circulants B et T, est longue, pouvant atteindre des mois ou des années. Ils font l'objet d'une recirculation entre sang, voies lymphatiques et organes lymphoïdes.

7.3. Durée de vie des plaquettes

Divers isotopes sont utilisés pour le marquage des plaquettes : ^{51}Cr et ^{111}In . Cette durée de vie est normalement de 8 à 12 jours. Leur destruction physiologique se fait principalement dans la rate et le foie.

8. CONCLUSION

Malgré les performances actuelles des automates qui identifient les populations normales et signalent les caractéristiques des cellules non identifiées, la reconnaissance des cellules pathologiques au microscope reste une étape indispensable.

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

1. **Une anémie :**
 - A. Ne peut pas être normocytaire
 - B. Est microcytaire si la TCMH < 80 fl
 - C. Ne peut pas être hyperchrome
 - D. Ferriprive est arégénérative
 - E. Peut-être macrocytaire
2. **La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) :**
 - B. Est la fraction du globule rouge constituée d'hémoglobine
 - C. Varie généralement dans le même sens que le volume globulaire moyen
 - D. Possède une valeur normale de 30 +/- 2 pg
 - E. Son augmentation présente un intérêt sémiologique
 - F. Est un paramètre mesuré
3. **Le volume globulaire moyen :**
 - A. Peut être exprimé en femtolitres
 - B. Est un paramètre calculé en automatique
 - C. Permet de classer une anémie
 - D. Permet d'orienter vers l'étiologie d'une anémie
 - E. Normal varie de 80 à 100 μm^3
4. **Dans une anémie dimorphe, avec des globules rouges de petite taille et des globules rouges de grande taille :**
 - A. Le volume globulaire moyen peut être normal
 - B. L'indice de distribution des globules rouges (IDR) est inférieur à 15%
 - C. La courbe des volumes globulaires possède un double pic
 - D. Le taux d'hémoglobine peut être normal
 - E. La transfusion peut être une cause

Cas clinique

Madame Y, âgée de 32 ans, mère de 4 enfants, est asthénique et essoufflée à la montée des étages depuis quelques mois. L'interrogatoire a noté des grossesses rapprochées avec notion d'allaitement.

L'examen clinique retrouve une pâleur, des ongles striés, des cheveux secs et cassants et une perlèche commissurale.

Les résultats de la numération formule sanguine (NFS) montrent :

GR = $2,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$, hémoglobine = 6,7 g/dL, hématocrite = 23 %, VGM = 65 fl, TCMH = 19 pg, réticulocytes = 50 000 / mm^3 , plaquettes = 550 000 / mm^3 , Leucocytes = 5 250 / mm^3

4. L'interprétation de la NFS montre :
 - F. Une anémie hypochrome microcytaire arégénérative
 - G. Une leucopénie
 - H. Une thrombocytose
 - I. Une anémie normochrome normocytaire régénérative
 - J. Myélémie
5. Quel est le premier diagnostic à évoquer devant ce tableau clinique et cette NFS
 - F. Une carence martiale
 - G. Une anémie hémolytique auto-immune

- H. Une carence en vitamine B12
 - I. Une myélodysplasie
 - J. Une aplasie médullaire
6. Quel est l'examen à demander pour compléter l'enquête étiologique :
- A. Ferritinémie
 - B. Ponction sternale
 - C. Biopsie médullaire
 - D. Dosage de la vitamine B12
 - E. Dosage des folates

Réponses QCM :

QCM 1 :

QCM 2 :

QCM 3 :

QCM 4 :

QCM 5 :

Réponses QCM cas clinique :

QCM 1 : A C

QCM 2 : A

QCM 3 : A

LE FER : METABOLISME ET EXPLORATION

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	77
1. INTRODUCTION	78
2. METABOLISME DU FER	78
2.1. Les formes métaboliquement actives	78
2.2. Répartition du fer dans l'organisme	78
2.3. Mouvements du fer dans l'organisme (Figure N°2)	78
3. METHODES D'EXPLORATION DU METABOLISME DU FER	80
3.1. Explorations statiques (Figure N°4)	80
3.2. Exploration dynamique au Fer 59	81
TEST D'AUTO EVALUATION	84

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Définir le rôle du fer dans l'organisme.
2. Distinguer le fer fonctionnel du fer de réserve.
3. Représenter par un schéma, le cycle quotidien du fer.
4. Énumérer les principales méthodes d'exploration du fer.
5. Expliquer l'intérêt de la ferritinémie dans le classement d'une anémie microcytaire.
6. Comparer à l'aide d'un diagramme la valeur du fer sérique et de la capacité totale de fixation de la sidérophiline dans les différents types d'anémie.

1. INTRODUCTION

Le fer est présent et nécessaire dans toutes les cellules de l'organisme. C'est un élément indispensable à la constitution des globules rouges (hémoglobine : Hb) (Figure N°1). Il intervient également dans de nombreuses réactions métaboliques. Lorsque le stock martial disponible pour l'érythropoïèse est insuffisant, il se produit une insuffisance de synthèse de l'Hb et donc une anémie ferriprive (anémie hypochrome microcytaire).

2. METABOLISME DU FER

2.1. Les formes métaboliquement actives

Ce sont :

- le fer plasmatic lié à une protéine, la transferrine ou sidérophiline,
- et le fer des pigments respiratoires (Hb: 80 % du stock total, myoglobine, cytochromes) et des enzymes oxydatives (catalases, peroxydases). L'hème, groupement prosthétique de ces pigments et enzymes , est constitué par l'union d'un atome de fer divalent (Fe^{++}) et d'un cycle tétrapyrrolique.

2.2. Répartition du fer dans l'organisme

La quantité totale du fer dans l'organisme est de 3 à 4 chez l'adulte. Il se répartit en plusieurs compartiments , quantitativement inégaux:

- **Le compartiment fonctionnel:** il représente 70% du fer total, soit 2,8g. Il est constitué essentiellement par le fer de l'Hb (1g d'Hb contient 3,3 mg de fer). Une faible quantité de fer (0,4 g) se trouve dans la myoglobine et dans certaines enzymes cellulaires intervenant dans le métabolisme oxydatif.
- **Le compartiment de transport:** il est quantitativement réduit et représente 0,1% du fer total, soit 4 mg. Dans le plasma, il n'y a pas de fer libre. Le fer est presque exclusivement lié à la transferrine (sidérophiline) qui possède deux sites de fixation pour ce métal. En situation d'homéostasie martiale, 20 à 45% des sites sont occupés.

La transferrine est une glycoprotéine synthétisée essentiellement par le foie. Son rôle est de transporter le fer aux cellules, sans être consommée lors des échanges. Le fer est distribué aux cellules par l'intermédiaire du récepteur de la transferrine (r-TF).

- **Le compartiment de réserve :** il représente environ 1 g chez l'adulte soit 25 % du fer total. Ce fer est stocké dans les cellules du système des phagocytes mononuclées (du foie, de la rate, de la moelle osseuse) et dans les hépatocytes, sous deux formes cliniquement différentes :
 - La ferritine : est une protéine hydrosoluble, formée d'apoferritine et de fer. Elle est principalement intracellulaire et constitue une forme de réserve facilement mobilisable. Le fer lié à la ferritine représente la moitié des réserves chez le sujet normal. Elle est trouvée en petite quantité dans le plasma. Son dosage sérique a un intérêt capital car il reflète l'état des réserves et varie dans le même sens.

- L'hémosidérine : C'est une forme dénaturée de la ferritine, insoluble, contenant une fraction plus importante de fer. Les réserves liées à l'hémosidérine sont difficilement mobilisables.

2.3. Mouvements du fer dans l'organisme (Figure N°2)

2.3.1. Le métabolisme du fer se fait pratiquement en cercle clos

Le métabolisme du fer se situe pour la plus grande partie dans un système fermé avec échanges entre les différents compartiments. Les apports alimentaires (entrées) et les pertes (sorties) sont relativement très réduits (1 mg/jour) par rapport

au stock total (4 g). Les hématies circulantes, au terme de leur durée de vie, libèrent le fer de leur Hb. Celui-ci, pour l'essentiel, est réutilisé pour une nouvelle synthèse de l'Hb par les érythroblastes médullaires. Il leur est livré soit sous forme ionique, trivalente, par la transferrine, soit sous forme de ferritine par transfert direct des macrophages médullaires aux érythroblastes.

2.3.2. Apports, besoins et élimination

- **Les pertes** : sont d'environ 1 mg/j chez l'homme, se font par les urines, la sueur, la desquamation cellulaire, les phanères, les selles. Chez la femme, ces pertes sont augmentées du fait des menstruations (30 mg par cycle), des grossesses et de l'allaitement (1 mg/j).
- **Les besoins** : couvrent les pertes et sont donc faibles: 1 à 2 mg /j chez l'homme, 2 fois plus chez la femme en période d'activité génitale, ils sont augmentés pendant l'enfance, l'adolescence et chez la femme enceinte, surtout dans les 3 derniers mois de grossesses, et la femme allaitante.
- **Les apports** : les apports alimentaires couvrent largement les besoins. Une alimentation équilibrée apporte 10 à 20 mg de fer par jour (fer ferrique Fe⁺⁺).

Les aliments les plus riches en fer sont: la viande, le foie, les épinards, les lentilles, les fruits secs, le vin et le cidre. Le lait et surtout les farineux en sont relativement dépourvus, ce qui explique la fréquence des carences martiales chez le nourrisson de quelques mois, avant la diversification de l'alimentation.

2.3.3. Absorption

Le fer alimentaire ferrique arrive dans l'estomac lié aux protéines organiques dont il est libéré grâce à l'acidité gastrique. Il est ensuite fixé dans un complexe par des mucines pour rester soluble à pH neutre intestinal. Une malabsorption du fer est d'ailleurs fréquente après gastrectomie. L'absorption se fait essentiellement dans le duodénum et la partie haute du jéjunum. Elle concerne globalement 10% du fer ingéré, soit 1 à 2 mg/j pour une alimentation équilibrée. Les anti-acides, l'acide tannique (thé) et l'argile diminuent l'absorption intestinale du fer. De même, en cas d'accélération du transit, l'absorption diminue. Il existe cependant une possibilité d'absorption iléale, voir colique, expliquent l'absence de carence dans les exclusions duodénales.

L'absorption est augmentée lorsque les besoins augmentent (enfants et adolescents, grossesse). Cette absorption est réglée par un mécanisme actif. Le fer entre dans les cellules intestinales par leur surface apicale grâce à une protéine: la DMT1. Du côté basal de la cellule intestinale, le fer est exporté grâce à une autre protéine: la ferroportine. L'équilibre de ce système en circuit fermé peut être rompu si les pertes sont accrues. Il s'agit le plus souvent de pertes de fer hémoglobiniques par hémorragies. L'absorption intestinale, au maximum multipliée par deux, n'augmente pas en effet suffisamment pour les compenser. Le déséquilibre apparaît d'autant plus facilement chez la femme en période d'activité génitale ou au cours de la grossesse que ses réserves sont moindres du fait des pertes menstruelles antérieures.

2.3.4. Mouvements internes du fer

- **Incorporation dans les érythroblastes**: La boucle la plus importante est représentée par le circuit de l'érythropoïèse. Les érythroblastes sont capables d'incorporer le fer jusqu'au stade de réticulocyte. Seul le fer lié à la transferrine peut être fixé par les érythroblastes et incorporé à l'hème par l'intermédiaire de récepteurs à la transferrine.

Il existe une forme soluble du récepteur à la transferrine (sRTf) qui est une forme tronquée du récepteur. Les érythroblastes constituent la source principale de sRTf. Un état ferriprive peut augmenter le nombre des récepteurs à la transferrine à la surface des érythroblastes. D'autre part, une stimulation de l'érythropoïèse augmente le

nombre des cellules engagées dans la voie de différenciation érythropoïétique. Ces deux conditions entraînent une augmentation du nombre des sRTf et de ce fait le dosage des sRTf est proposé en clinique comme un moyen d'évaluer le fer "fonctionnel" dans l'organisme.

- **Hémolyse** : L'hémolyse physiologique libère la même quantité de fer que celle incorporée dans l'Hb (30mg/j). Le fer libéré de macrophages rejoint le compartiment circulant, où il est lié à la transferrine.
- **Fer circulant** : Le fer du compartiment circulant est la forme essentielle d'échange avec les autres compartiments.
- **Réserves** : Le foie est un milieu important de réserve. Il existe en fonction des besoins (surcharge ou déplétion), un échange journalier de quelques milligrammes entre le compartiment circulant et la ferritine. Il existe aussi des échanges entre la ferritine et l'hémosidérine beaucoup plus lents et ne s'adaptent aux déséquilibres que de manière très retardée.

2.3.5. Maintien de l'homéostasie du fer

- **La protéine HFE** : molécule HLA (human leucocyte antigen) classe 1 qui contrôle l'absorption intestinale du fer (liaison de la transferrine à son récepteur et expression du DMT1).

- **L'hepcidine** : peptide produit par le foie. Il inhibe l'absorption intestinale du fer et son relargage par les macrophages en agissant sur la ferroportine (Figure N°3).

- De plus, d'autres protéines participent aux mouvements du fer tels que la transferrine et son récepteur cellulaire, DMT1, ferroportine, céruléoplasmine

3. METHODES D'EXPLORATION DU METABOLISME DU FER

3.1. Explorations statiques (Figure N°4)

3.1.1. Dosage du fer sérique (sidérémie)

Le prélèvement :

- À jeun, l'heure du prélèvement doit être standardisée en raison des variations circadiennes : maximum entre 10 h et 16 h, minimum entre 21 h et 5h.
- Éviter les anticoagulants complexant le fer : EDTA, citrate, oxalate
- Éviter la stase veineuse, l'hémolyse et les sérums lipémiques.

Les taux normaux de la sidérémie sont assez dispersés de 13 à 20 $\mu\text{mol/L}$, soit 700 à 1100 $\mu\text{g/L}$. La sidérémie est plus élevée chez l'homme que chez la femme.

Le fer sérique est abaissé dans les carences martiales, élevé dans les surcharges (hémosidérose, hémochromatose). Son taux varie également en fonction de son renouvellement : abaissé dans les polyglobulies, les régénérations médullaires très intenses. Il est élevé dans les insuffisances médullaires par aplasie ou érythropoïèse inefficace. Il s'élève aussi dans les cytolyses hépatiques par libération des réserves hépatiques.

3.1.2. Dosage de la sidérophiline

Il utilise une méthode indirecte : la capacité latente de fixation de la transferrine (CLF) qui est la capacité de la transferrine à lier du fer jusqu'à saturation. On en déduit :

- **La capacité totale de fixation de la transferrine (CTF)** : c'est la somme de la sidérémie et de la capacité latente de fixation. La valeur normale est de 45 à 70 $\mu\text{mol/L}$ (2500 à 4000 $\mu\text{g/L}$).

- **Le coefficient de saturation de la transferrine (CS)** : c'est le rapport du fer sérique à la capacité totale de fixation de la transferrine Ses valeurs normales sont de 15 à 40% et des taux dépassant 50% chez la femme et 55% chez l'homme sont de bons indicateurs d'une surcharge en fer.

Dans les surcharges ou les cytolyses massives, il peut atteindre 100%.

3.1.3. Dosage du récepteur soluble à la transferrine

Le taux du sRTf est proportionnel aux taux des récepteurs cellulaires à la transferrine et traduit l'activité érythropoïétique. Les valeurs normales du sRTf varient suivant les trousseaux commerciales mais sont de l'ordre de 5 à 25 μM . Il est élevé en cas de carence en fer et n'est pas affecté en cas d'anémie inflammatoire.

Dans les surcharges intracellulaires, il y a un rétro-contrôle négatif sur sa synthèse.

3.1.4. Exploration des réserves

- **Mesure de la ferritine sérique (Ferritinémie):** le taux de ferritine circulante varie parallèlement aux réserves en fer de l'organisme. Son dosage est immuno-enzymatique.

La valeur normale de la ferritine sérique se situe dans une fourchette large, 30 à 400 $\mu\text{g}/\text{L}$ pour l'homme et 20 à 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ chez la femme.

La diminution de la ferritine sérique est le test le plus sensible et le plus précoce d'une carence martiale. C'est aussi le paramètre qui permet de juger de la restauration des réserves en fer. Elle est augmentée dans les lyses cellulaires importantes, les syndromes inflammatoires, les affections malignes, dans les surcharges martiales.

- **Coloration de perls :** le fer non hémoglobinique se colore par le ferrocyanure de potassium sous forme de grains bleu de Prusse. Cette coloration peut se pratiquer sur un myélogramme et biopsie hépatique. En situation physiologique, 10 à 20% des érythroblastes contiennent 1 à 3 grains (sidéroblastes). Au cours des surcharges en fer, il y a augmentation du nombre des grains jusqu'au sidéroblaste en couronne (anémie sidéroblastique).

3.1.5. Autres méthodes d'exploration du stock martial

- **Méthodes biophysiques:** il s'agit de techniques utilisant la résonance magnétique nucléaire, de techniques tomodensitométriques et de biomagnétométrie. Le coefficient d'atténuation hépatique fourni par tomodensitométrie ou résonance magnétique nucléaire du foie peut apprécier de façon spécifique l'importance de la surcharge en fer. Cependant la mise au point de ces techniques est délicate et l'appareillage coûteux, ce qui rend la réalisation de ces méthodes peu utilisée en pratique clinique.
- **Méthodes histologiques:** la biopsie hépatique permet de déterminer la quantité de fer par gramme de tissu sec. Ce test est volontiers utilisé en hépatologie pour affirmer le diagnostic d'hémosidérose génétique.

3.2. Exploration dynamique au Fer 59

Le fer radioactif injecté par voie veineuse, se lie à la transferrine et on peut étudier son devenir par prélèvements sanguins successifs et par comptages externes:

- la décroissance plasmatique est très rapide par incorporation globulaire (temps de demi-disparition est de 90 mn). Cette décroissance est encore plus rapide dans les anémies ferriprives.

- l'incorporation globulaire augmente jusqu'à 80% de la dose injectée avec un temps de demi-incorporation de 3 à 4 jours. L'incorporation globulaire augmente dans les carences en fer et diminue dans les insuffisances de l'érythropoïèse.

- les comptages externes de la radioactivité au niveau du sacrum, du foie et de la rate permettent d'évaluer les sites de l'érythropoïèse et leur activité relative ainsi que le mouvement du fer vers les réserves hépatiques. La radioactivité au niveau du sacrum est diminuée en cas d'insuffisance de l'érythropoïèse et augmentée dans les anémies sidéropéniques.

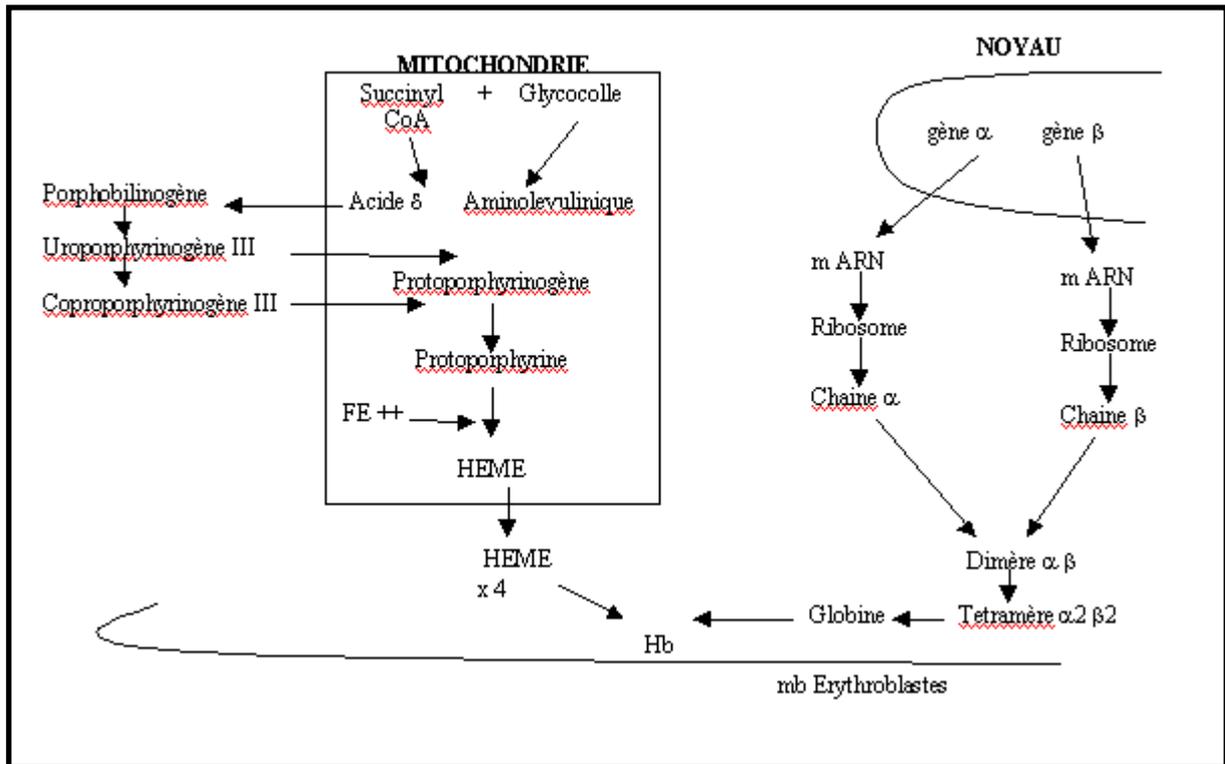


Figure N°3: synthèse de l'hémoglobine

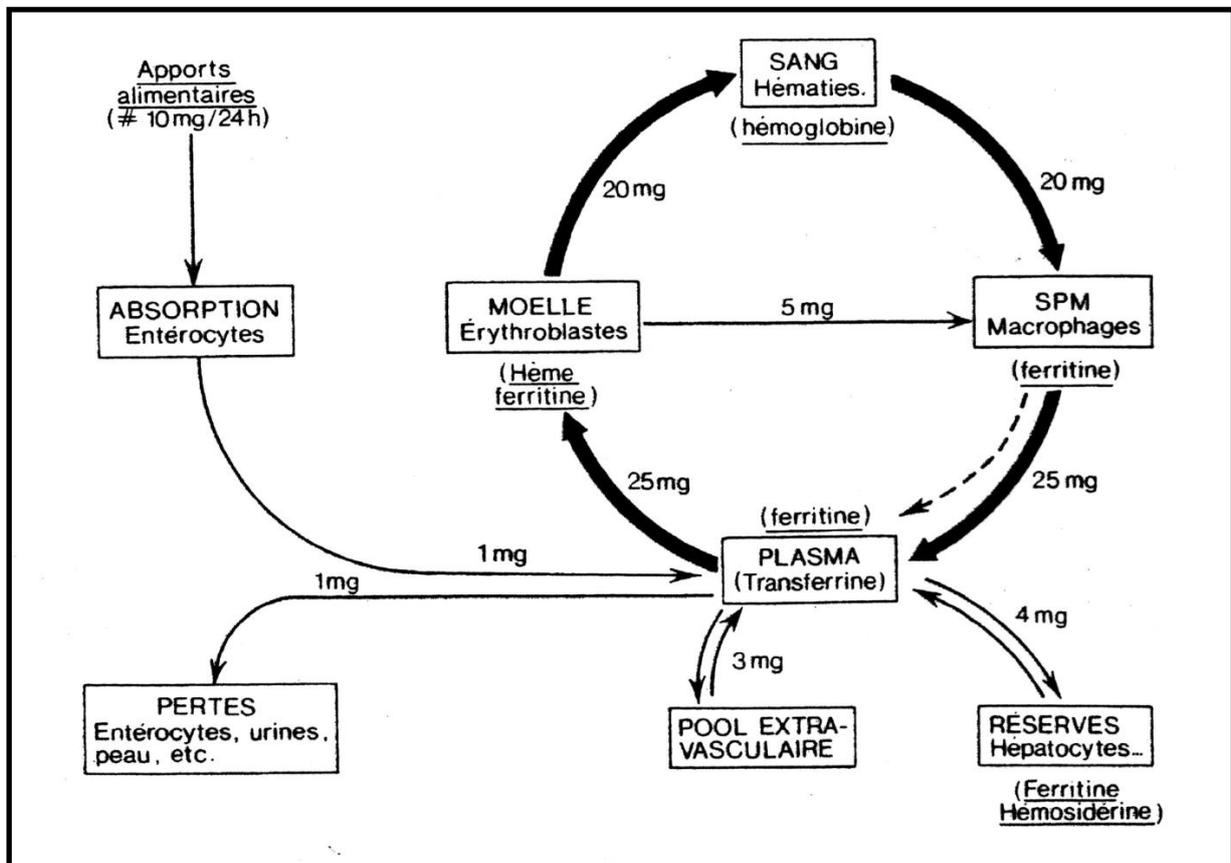


Figure N°2: Schéma simplifié des mouvements quotidiens du fer .

SPM: système des phagocytes mononucléés.

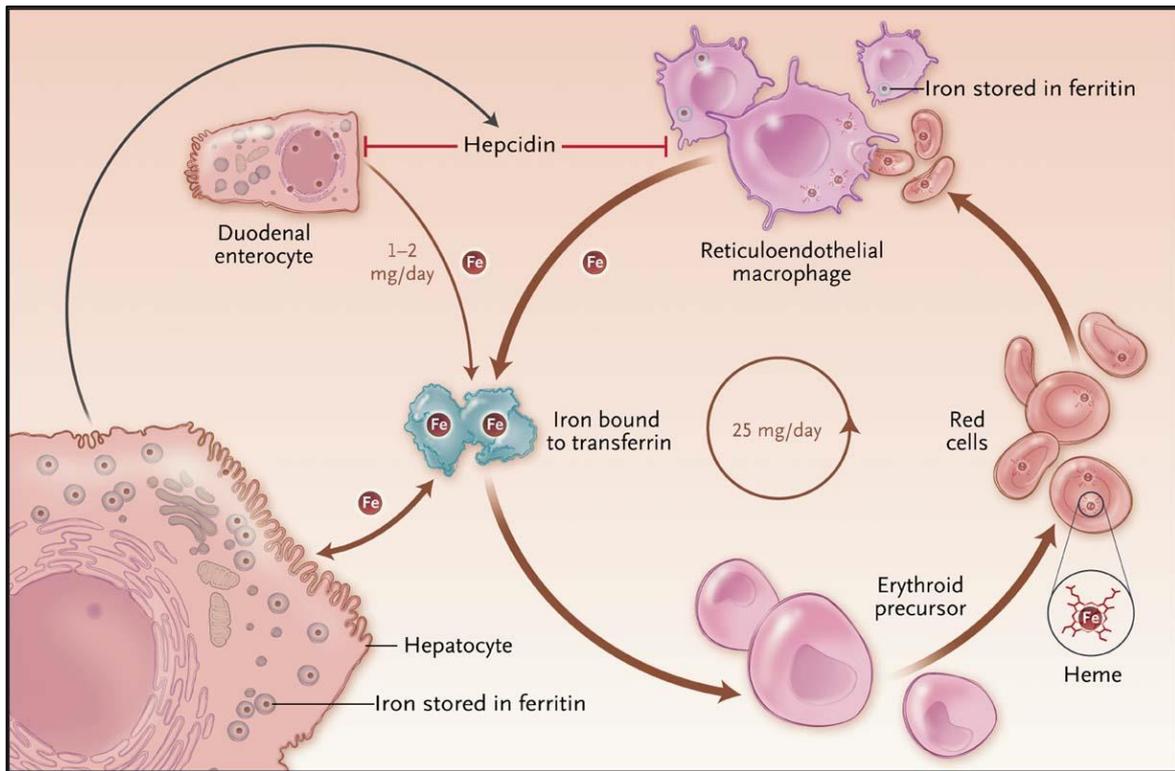


Figure N°3 : Métabolisme du fer.

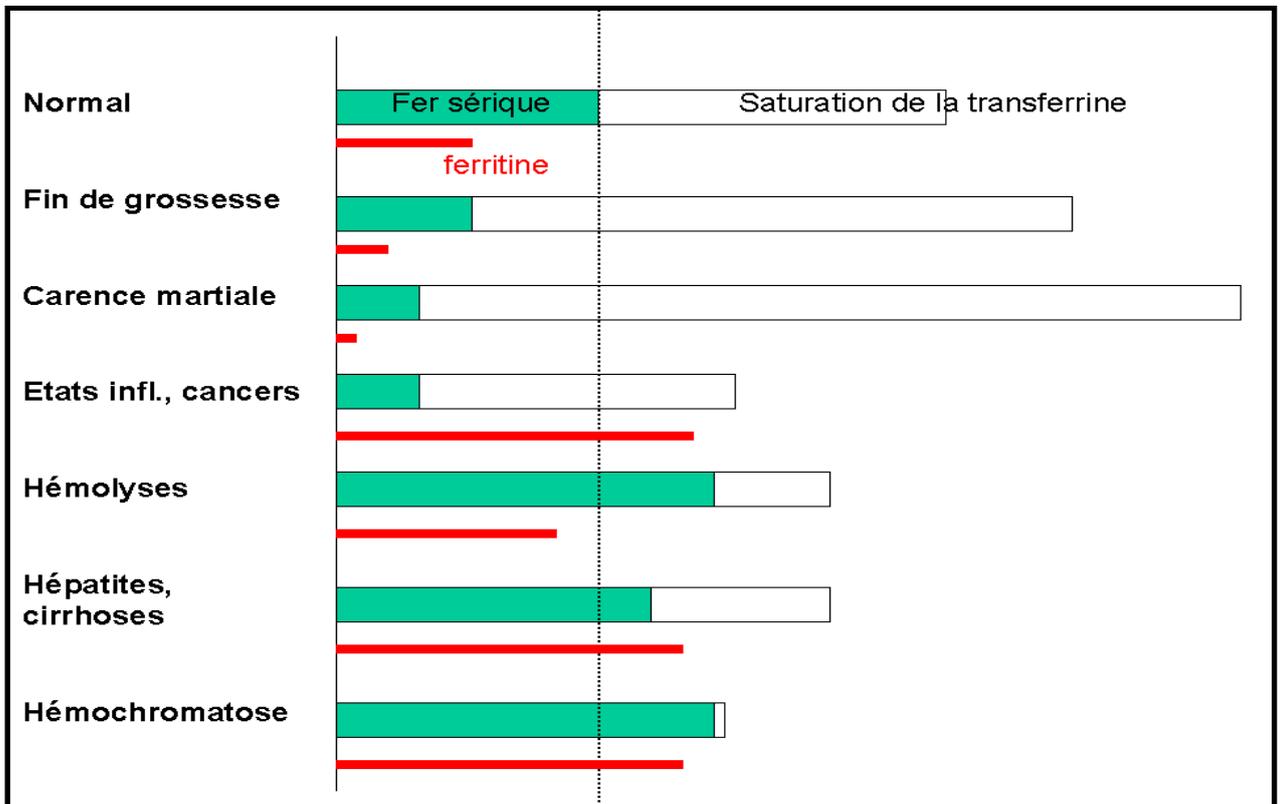


Figure N°4: Principales variations du fer sérique, de la transferrine et de sa saturation, et de la ferritinémie en pathologie .

TEST D'AUTO EVALUATION

QCM

1. Le Fer :

- A- est indispensable à la synthèse de l'hémoglobine
- B- intervient dans les réactions d'oxydoréduction cellulaire
- C- est apporté exclusivement par les protéines animales
- D- est stocké exclusivement dans les cellules du système des phagocytes mononucléés du foie
- E- sa quantité totale dans l'organisme est de l'ordre de 3 à 4 g chez l'adulte

2. L'absorption digestive du Fer :

- A- se fait essentiellement au niveau de l'iléon
- B- nécessite la présence du facteur intrinsèque
- C- concerne 10% du fer ingéré
- D- est régulée par le degré de saturation de la transferrine
- E- est diminuée après gastrectomie

3. L'hémosidérine :

- A- est une protéine liposoluble
- B- elle est principalement extracellulaire
- C- contient plus de fer que la ferritine
- D- est une forme de réserve difficilement mobilisable
- E- est mise en évidence par la coloration de Perls

Cas clinique QROC

Madame X, âgée de 32 ans, mère de 3 enfants, est asthénique et essoufflée à la montée des étages depuis quelques mois. L'interrogatoire a noté des grossesses rapprochées avec notion d'allaitement.

L'examen clinique retrouve une pâleur, des ongles striés, des cheveux secs et cassants et une perlèche commissurale.

Les résultats de la numération formule sanguine (NFS) montrent :

GR = $2,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$, hémoglobine = 6,7 g/dL, hématocrite = 24 %, VGM = 65 fl, TCMH = 19 pg, réticulocytes = 50 000/ mm^3 , plaquettes = 590 000/ mm^3 , Leucocytes = 5 250/ mm^3

1/ Interpréter la NFS

2/ Quel est le premier diagnostic à évoquer ?

3/ Citer deux examens à demander chez cette patiente

Réponses QCM :

QCM 1 : A, B, E

QCM 2 : C, D, E

QCM 3 : A, C, D, E

Réponse cas clinique :

1/ Anémie hypochrome microcytaire arégénérative avec hyperplaquettose.

Taux de leucocytes : normal

2/ carence martiale (ou carence en fer)

3/ dosage du fer sérique et de la ferritinémie

COBALAMINES ET FOLATES : Physiopathologie, métabolisme et exploration

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	85
1. INTRODUCTION	86
2. METABOLISME DES COBALAMINES ET DES FOLATES	86
2.1. Métabolisme des folates	86
2.2. Métabolisme des cobalamines	86
3. PHYSIOPATHOLOGIE	88
3.1. Physiopathologie des anémies mégaloblastiques	88
3.2. Physiopathologie du syndrome neuro-anémique	88
3.3. Physiopathologie des carences en cobalamines et en folates.....	88
4. METHODES D'INVESTIGATION DES ANEMIES MEGALOBLASTIQUES	89
4.1. Identification de l'anémie mégaloblastique	89
4.2. Diagnostic de la carence vitaminique	90
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	97

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Définir le rôle de la vitamine B12 et des folates dans la production d'érythrocytes.
2. Citer 2 formes médicamenteuses et 2 formes physiologiques de la vitamine B12.
3. Distinguer sur le plan biochimique, la principale forme de folates circulants de celle de siège tissulaire.
4. Enumérer les sources alimentaires de la vitamine B12 et celles des folates.
5. Indiquer les besoins en vitamine B12 et en folates.
6. Comparer les réserves de l'organisme en vitamine B12 et en folates.
7. Expliquer l'absorption de la vitamine B12 en indiquant pour chaque étape le principal transporteur.
8. Analyser les différentes réactions subies par les folates alimentaires aboutissant à son absorption.
9. Connaître la physiopathologie des anémies mégaloblastiques.
10. Connaître la physiopathologie du syndrome neuro-anémique.
11. Préciser la physiopathologie des carences en cobalamines et en folates.
12. Citer les méthodes d'exploration de la vitamine B12.
13. Citer les méthodes d'exploration des folates.

1. INTRODUCTION

Les cobalamines et les folates jouent un rôle important dans la synthèse de l'ADN de toutes les cellules à renouvellement rapide, dont les cellules hématopoïétiques. La carence en l'une ou l'autre de ces vitamines se traduit par une anémie macrocytaire avec mégaloblastose médullaire, témoin morphologique du trouble de synthèse de l'ADN.

2. METABOLISME DES COBALAMINES ET DES FOLATES

2.1. Métabolisme des folates

2.1.1. Formes naturelles (Figure N°1)

Le terme folates désigne globalement l'acide folique et ses dérivés. L'acide folique ou ptéroyglutamique, premier composé isolé de cette série, n'est ni la forme naturelle, ni la forme métaboliquement active. Les formes biologiquement actives sont des formes réduites : acide dihydrofolique (DHF) et acide tétrahydrofolique (THF) avec des dérivés méthyl, méthylène, formyl. Les formes naturelles (folates alimentaires) sont des polyglutamates. Les formes thérapeutiques stables sont l'acide folique et l'acide folinique (formyl THF).

2.1.2. Besoins, apports et réserves

- **Besoins et apports:** les besoins quotidiens se situent aux alentours de 200 µg et l'apport alimentaire est de 0,5 à 1 mg/j dans un régime équilibré. Les aliments les plus riches sont des protéines animales (foie), la levure de bière, les fruits, les légumes verts crus (une cuisson prolongée détruit les folates).
- **Réserves :** ils représentent 7 à 12 mg, se situent dans de nombreux tissus, la moitié dans le foie, le reste surtout dans le rein et le pancréas. Ces réserves sous forme de polyglutamates sont relativement faibles, épuisables en 1 à 4 mois en cas de carence.

2.1.3. Absorption digestive et métabolisme cellulaire (Figure N°2 et

5)

Elle se fait au niveau du jéjunum. C'est un phénomène actif, saturable, PH dépendant. Les folates alimentaires sont clivés en monoglutamates dans l'entérocyte par une conjugase intestinale, et transformés, pour la majeure partie, en méthyl THF, forme plasmique circulante.

Dans le plasma, les folates sont en partie libres et en partie liés à des protéines. Les folates circulent sous forme de monoglutamates (surtout méthyl THF) et sont amenés aux cellules utilisatrices, à l'intérieur desquelles ils sont transformés en polyglutamates.

2.1.4. Rôle métabolique des folates

Les folates interviennent dans:

- La synthèse du thymidylate monophosphate (dTMP) à partir du déoxyuridylate (dUMP): étape essentielle de la synthèse d'ADN.
- La biosynthèse des bases puriques, adénine et guanine, grâce au formyl THF et au méthylène THF.
- Le catabolisme de l'histidine.
- La synthèse de la méthionine.

2.2. Métabolisme des cobalamines

2.2.1. Formes naturelles (Figure N°3)

Les termes de cobalamines ou vitamine B12 désignent les différents cobalamines ayant un noyau de base commun (structure tétrapyrrolique avec au centre, un atome de cobalt) et un radical ou ligand propre à chacune d'entre-elles, permettant de distinguer :

- Cyanocobalamine et hydroxocobalamine: sont des formes stables, utilisés en thérapeutique.

-Méthylcobalamine et déoxy-adénosylcobalamines: sont les formes actives, rencontrées dans le sérum et les tissus, mais instables.

2.2.2. Besoins, apports et réserves

- **Besoins et apports** : La vit B12 n'est pas synthétisée chez l'homme et l'apport est exclusivement alimentaire. Les aliments qui en sont les plus riches sont le foie, la viande, les crustacés, beaucoup moins les œufs, le lait. Elle est totalement absente des végétaux. Les besoins quotidiens sont de 2 à 3 µg alors que l'apport alimentaire représente en moyenne 50 µg/j.

- **Réserves** : Les réserves sont importantes. Elles sont de 3 à 4 mg, dont la moitié dans le foie. Elles sont donc suffisantes pour assurer les besoins pendant 2 à 5 ans.

2.2.3. Absorption digestive et transport (Figures 4 et 5)

Les cobalamines liées aux protéines alimentaires, sont libérées par la sécrétion gastrique acidopeptique, pour se lier aussitôt à deux ligands protéiques présents dans l'estomac :

-**Les transcobalamines (TC) I et II** encore appelées haptocorrines ou protéines R

-**Le facteur intrinsèque (FI)**, glycoprotéine sécrétée par les cellules pariétales du corps et du fundus de l'estomac après stimulation par la gastrine.

Dans l'intestin, sous l'action des protéases pancréatiques, il y a dissociation des complexes haptocorrine- vit B₁₂ et fixation de celle-ci à de nouvelles molécules de FI. Le complexe vit B₁₂ -FI parvient à l'iléon distal, se fixe sur l'entérocyte grâce à un récepteur spécifique. Seule la vit B₁₂ traverse l'entérocyte et passe dans le sang portal. Le FI n'étant pas absorbé.

Le transport sanguin de la vit B₁₂ est assuré par les transporteurs spécifiques qui sont les TC I, II et III.

La TC II transporte la vit B₁₂ absorbée au niveau de l'intestin et la délivre aux cellules utilisatrices. Le complexe vit-B₁₂-TCII se fixe sur les récepteurs spécifiques puis pénètre dans la cellule utilisatrice où il y'aura lyse et libération de la vit B₁₂. La TCII ne transporte que 20 à 30% des cobalamines circulantes.

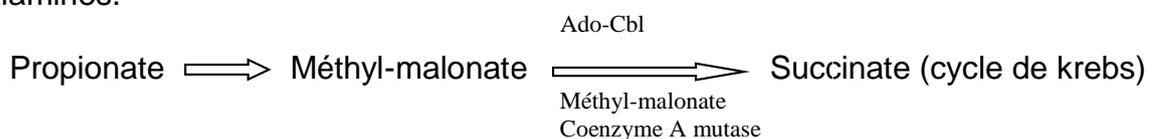
Les TCI et III transportent la vit B₁₂ sans la distribuer aux cellules utilisatrices. Elles assurent le transport de la vit B₁₂ mobilisée depuis les réserves.

2.2.4. Rôle métabolique des cobalamines

La vit B₁₂ est nécessaire à la multiplication cellulaire. C'est une coenzyme de 2 réactions majeures :

- la conversion de l'homocystéine en méthionine : la méthylcobalamine, coenzyme de la méthionine synthase, permet la méthylation de l'homocystéine, le donneur de radical méthyl étant le 5-méthyl-THF. La vit B₁₂ permet ainsi la régénération de THF et assure une concentration intracellulaire normale des folates. Au total, par ses interrelations avec les folates, la vit B12 participe indirectement à la synthèse de l'ADN.

- la conversion du propionate en succinate : la déoxyadénosyl-cobalamine (AdoCbl) permet la conversion du propionate en succinate via le méthyl-malonate; ceci explique l'excrétion urinaire d'acide méthyl-malonique dans les carences en cobalamines.



3. PHYSIOPATHOLOGIE

3.1. Physiopathologie des anémies mégaloblastiques

3.1.1. Cycle cellulaire

La synthèse d'ADN n'a lieu que pendant une partie du cycle cellulaire dénommée phase S. Le cycle cellulaire est divisé en quatre phases :

-**G1**: phase de repos post-mitotique; les cellules sont à l'état diploïde (2 n d'ADN),
-**S**: synthèse active d'ADN. Le contenu d'ADN passe de l'état diploïde (2n) à l'état tétraploïde (4n) grâce à la replication de l'ADN avec recopiage intégral du code génétique .

-**phase G2 ou prémitotique**, à 4n d'ADN,
-**phase M ou mitose**: l'ADN est clivé, chaque cellule hérite d'une quantité identique d'ADN (4n → 2n).

3.1.2. Mégaloblastose médullaire

Elle est caractérisée par un retard de maturation nucléaire avec chromatine fine "perlée", alors que le cytoplasme subit une maturation normale : les cellules sont riches en ARN, avec un cytoplasme fortement basophile et acquièrent une charge normale en hémoglobine contrastant avec le retard de maturation nucléaire. Il s'agit d'un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique qui définit la mégaloblastose. Ces anomalies cytologiques résultent d'un défaut de réplication de l'ADN. De nombreuses cellules s'arrêtent dans le cycle cellulaire au niveau de la phase S. Ce ralentissement ou blocage dans la phase S est confirmé par l'analyse de l'ADN par gradient, montrant qu'il est formé de courts fragments avec retard à l'élongation et par l'étude cytogénétique (les chromosomes sont anormalement longs et fragiles). Le blocage de synthèse de l'ADN peut être dû à une carence en cobalamines ou en folates ou à une anomalie de la biosynthèse de l'ADN d'origine toxique ou congénitale. Le trouble est responsable d'une grande érythropoïèse inefficace par "avortement" intramédullaire d'éléments immatures qui a été confirmé par les études ferro-cinétiques au Fe.

L'asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique, l'insuffisance des mitoses expliquent les anomalies morphologiques généralement constatées dans la moelle ainsi que la macrocytose .

L'anomalie concerne en fait toutes les cellules à renouvellement rapide : lignées granulocytaires et plaquettaires, cellules germinales, cellules des muqueuses digestives et vaginales qui présentent aussi un gigantisme. On explique dans la glossite, et les anomalies des muqueuses digestives responsables de diarrhée, voire d'un certain degré de malabsorption.

3.2. Physiopathologie du syndrome neuro-anémique

Il n'est observé que dans les carences en vit B₁₂, par un mécanisme différent du trouble de synthèse d'ADN , les neurones étant des cellules qui ne se divisent pas. Le mécanisme exact du syndrome neuro-anémique reste mal connu. Il pourrait s'agir d'un défaut de synthèse de S-adénosylméthionine via la méthionine, entraînant une insuffisance de synthèse des phosphatidyl-cholines entrant dans la constitution des gaines de myéline.

3.3. Physiopathologie des carences en cobalamines et en folates

3.3.1. Les mécanismes possibles

Les mécanismes possibles de constitution de ces carences sont une insuffisance d'apport, d'absorption, un accroissement des besoins et enfin, un trouble d'utilisation.

Les carences foliques sont très souvent dues à des apports insuffisants (malnutrition ,cuissons prolongées détruisant les folates) et à un déséquilibre entre

apports et besoins, ces derniers étant accrus lors de la grossesse, au cours des anémies hémolytiques ou des proliférations cellulaires malignes.

Les carences en cobalamines sont surtout dues à des maladies gastriques affectant la production de FI (elles sont obligatoires après gastrectomie totale, suivie d'anémie mégalo-blastique après épuisement des réserves, deux à cinq ans plus tard) ou à des affections intestinales; il peut s'agir d'une exclusion anatomique du siège normal d'absorption de la vitamine -exérèse étendue, court-circuit ou d'une pullulation microbienne qui détourne à son profit la vit B 12 de la lumière intestinale.

3.3.2. Physiopathologie de la maladie de Biermer :

C'est une carence élective en cobalamines qui sont malabsorbées du fait d'une absence plus ou moins complète de sécrétion de facteur intrinsèque. Ce tarissement résulte de la conjonction de deux anomalies :

- **la gastrite atrophique**, qui précède la maladie de Biermer et persiste indéfiniment. Elle entraîne une réduction parallèle de la sécrétion d'acide chlorhydrique et de facteur intrinsèque. Elle est favorisée par l'âge mais comporte des anomalies histologiques spécifiques : infiltration lympho-plasmocytaire sous-muqueuse.

- **des auto-anticorps anti-facteur intrinsèque** (Figure N°6), qui sont de deux types : anticorps de type I, bloquants, empêchant la liaison de la vitamine B12 au FI, et de type II, précipitants, inhibant la fixation du complexe B12- FI sur les récepteurs iléaux.

La responsabilité de ces anticorps dans la maladie n'est pas encore clairement établie ; on les trouve exceptionnellement en dehors de la maladie de Biermer, et surtout on ne les trouve pas constamment dans cette affection : les anticorps sériques de type I sont présents dans environ 66% des cas, ceux de types II, sans intérêt clinique, sont décelés dans 33% des cas et seulement chez des malades ayant déjà un anticorps de type I. On détecte parfois ces derniers dans le suc gastrique ou intestinal, libres ou complexés au FI, alors qu'ils sont absents du sérum.

-En outre, il est possible que **des perturbations de l'immunité cellulaire** interviennent également (positivité des tests de transformation lymphoblastique et d'inhibition de la migration leucocytaire en présence de FI).

4. METHODES D'INVESTIGATION DES ANEMIES MEGALOBLASTIQUES

4.1. Identification de l'anémie mégalo-blastique

L'identification de l'anémie mégalo-blastique se fait par l'hémogramme, le taux de réticulocytes et le myélogramme, toujours nécessaire, avec coloration des sidéoblastes.

La biopsie de moelle en revanche est inutile. On demandera également des dosages de fer, de bilirubine et de LDH.

4.1.1. Hémogramme

- L'anémie est macrocytaire (VGM >100 fL peut atteindre 130-140 fL), normochrome a régénérative.

- Une leucopénie et/ou une thrombopénie modérées sont fréquentes, réalisant une bicytopénie ou une pancytopénie.

- L'indice de distribution des volumes des globules rouges (IDR) est généralement augmenté > 15, témoignant d'une anisocytose.

- Au frottis sanguin, il existe des anomalies morphologiques des globules rouges (anisocytose, corps de Jolly (des débris nucléaires), macrocytes, ovalocytes, anneau de cabot (vestiges du fuseau), des polynucléaires de grande taille à noyaux hypersegmentés et des plaquettes géantes.

4.1.2. Myélogramme

- Il est indispensable au diagnostic et doit être pratiqué **avant tout traitement vitaminique**.

- La moelle est riche, bleue.
- La lignée érythroblastique est hyperplasique faite de cellules géantes ou mégalo blastes. Ce sont des cellules de grande taille avec un noyau dont la maturation est en retard ce qui se traduit par une chromatine fine perlée avec parfois des nucléoles avec une maturation normale du cytoplasme (Figure N°7).
- Cet asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique intéresse également les autres lignées : Métamyélocytes de grande taille et mégacaryocytes hypersegmentés.

4.1.3. Autres anomalies biologiques

Ils témoignent de l'érythropoïèse inefficace et de l'hémolyse intramédullaire : Fer sérique \uparrow , LDH \uparrow , Bilirubine libre \uparrow .

4.2. Diagnostic de la carence vitaminique

4.2.1. Les dosages vitaminiques

Les dosages vitaminiques dans le sérum et aussi dans les érythrocytes pour les folates sont le moyen le plus fidèle pour détecter une carence de l'une de ces deux vitamines. Ils sont réalisés soit par :

- dosage microbiologique (n'est plus utilisé) : utilisant des germes vitamine B₁₂ ou folates -dépendants,
- dosage radio-immunologique (technique par compétition vis-à-vis d'un accepteur mesuré à l'aide de traceurs isotopiques)
- technique froide d'électrochimiluminescence. Ces derniers sont cependant moins précis que les surévalués.

Ces dosages apportent la preuve d'une carence vitaminique :

	Taux normal	Carence en B₁₂	Carence en folates
Folates sériques	12 ug/L	Normal ou augmenté	Très diminués
Folates érythrocytaires	>200 ug/L	Diminués*	Très diminués
Vitamine B₁₂ sérique	200-500 ng	Très diminuée	Normale

* : la vitamine B₁₂ est nécessaire à l'incorporation des folates dans les cellules.

Ces dosages perdent toute signification chez des malades ayant reçu une vitaminothérapie antérieure trop souvent prescrite devant une anémie non élucidée ou même pour des raisons non hématologiques et discutables, donnant des augmentations considérables et très durables notamment pour la vitaminémie B₁₂.

Seuls les folates érythrocytaires permettent d'avoir une estimation réelle des réserves foliques de l'organisme ; les folates sériques sont en effet soumis à des fluctuations trop fréquentes et peuvent être abaissés en dehors d'une carence réelle. Cependant, une baisse des folates érythrocytaires avec folates sériques normaux ou élevés est également observée dans les carences en vitamines B₁₂. Les trois dosages sont donc nécessaires.

Des anomalies des taux sanguins peuvent être observées en dehors des carences: la prise simultanée d'inhibiteurs (antibiotiques ou antifoliques) rend impossible le dosage micro-biologique des folates. Le taux de folates sériques est en outre augmenté dans les pullulations microbiennes intestinales, celui de la vitaminémie B₁₂ dans les hépatopathies et les syndromes myélo-prolifératifs.

4.2.2. Les autres tests

*** Tests indirects**

- L'élévation de l'homocystéine sérique est un indice très précoce de carence en cobalamines et à un moindre degré en folates avec parallèlement baisse de la méthionine sérique.
- La mesure de l'excrétion urinaire d'acide méthyl-malonique spécifique de la carence en cobalamines en dehors d'une méthylmalonyl-acidurie congénitale est rarement pratiquée.

*** Le test de suppression par la déoxyuridine (dU Suppression) (Figure N°8)**

Il est fidèle et spécifique d'une carence vitaminique. Ce test repose sur l'observation qu'à l'état normal, une pré-incubation des cellules médullaires avec de la déoxyuridine (dU) supprime presque totalement l'incorporation de thymidine (dT) tritiée dans l'ADN en raison du fonctionnement normal de la voie endogène; en revanche, cette suppression est très incomplète dans les anémies par carence vitaminique, la conversion de dUMP en dTMP étant bloquée. On observe ainsi une véritable "mégalo blastose chimique", même en l'absence d'une mégalo blastose morphologique.

L'adjonction in vitro de folates corrige l'anomalie dans les carences foliques, alors qu'elle n'est corrigée, dans les carences en vitamines B₁₂ que par l'adjonction simultanée de méthylcobalamine et méthyl THF. Ce test est relativement simple mais n'est encore réalisé que dans quelques laboratoires spécialisés.

*** Les tests de Traversée Digestive**

Ils ont un intérêt diagnostique pour élucider le mécanisme et par conséquent l'étiologie d'une carence. Ils peuvent être utilisés pour le **diagnostic rétrospectif** chez des malades prématurément traités.

- Mesure de l'absorption de la vitamine B₁₂: test de shilling (Figure N°9)

Ce test a un intérêt **diagnostic et étiologique**.

Après injection IM de 1000 µg de vit B₁₂ pour saturer les réserves hépatiques, on administre per os 0,5 à 2 µg de vit B₁₂ marquée au Cobalt 58 et on mesure la radioactivité urinaire de 24 heures.

Chez le sujet normal, la vit B₁₂ marquée, ingérée est absorbée, va vers le foie qui est déjà saturé. Une quantité importante sera donc éliminée dans les urines : radioactivité urinaire supérieure à 10% de la radioactivité ingérée.

Chez le sujet carencé par déficit en FI, la vit B₁₂ marquée n'est pas absorbée et donc l'élimination urinaire est inférieure à 3%. Dans ce cas le test doit être refait en administrant du FI en même temps que la vit B₁₂ et donc l'élimination urinaire redevient comparable à celle du sujet sain.

- Le test de charge en acide folique

Il utilise, après saturation de l'organisme par deux injections d'acide folinique 10 mg, une dose de charge per os d'acide folique (40 µg/kg de poids). Une concentration plasmatique, 1 à 2 heures après, très inférieure à 40 µg/L traduit une malabsorption au niveau du grêle proximal.

C'est un test qui n'est pas réalisé en pratique médicale courante.

- Test du FIGLU

Après une dose de charge de chlorhydrate d'histidine per os (adulte 5g ; enfant 0,3 g/Kg), on mesure l'excrétion urinaire du FIGLU (acide forminino-glutamique) sur les urines de 24 heures avant et après la charge orale. Ce test cependant peu spécifique et souvent faussé positivement par certains états pathologiques ou physiologiques (cirrhose hépatique, grossesse, carence en B₁₂).

*** Les tests thérapeutiques**

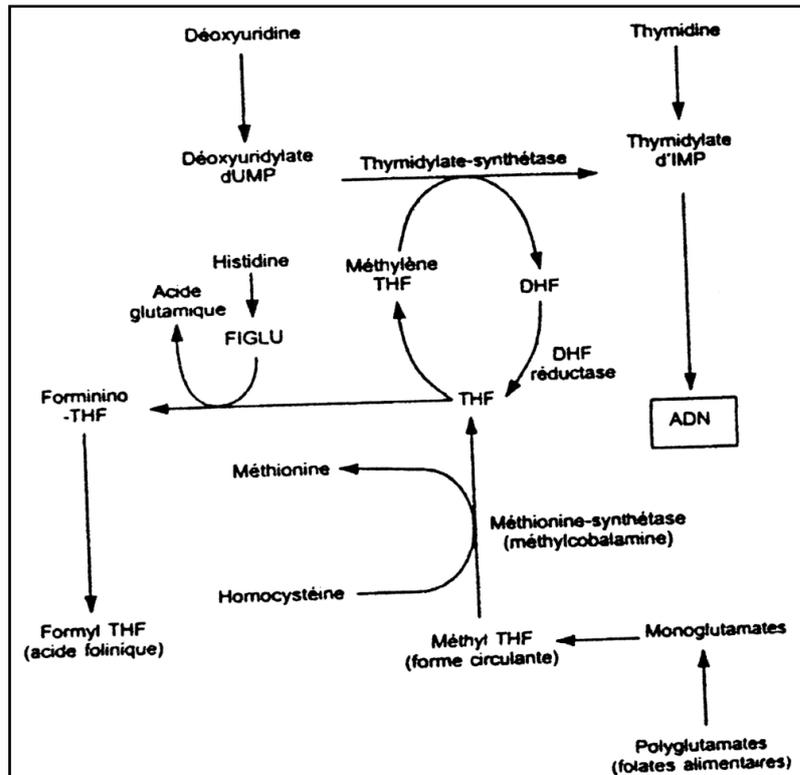


Figure N°2 : Interconversion des folates. Action de la vitamine B12 et des folates dans la synthèse de l'ADN

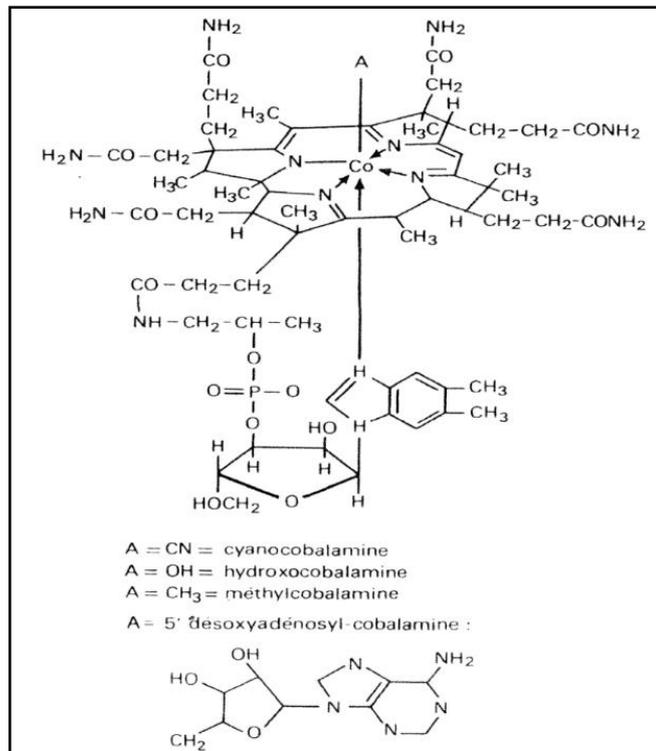


Figure N°3: Vitamine B12 et ses principaux dérivés actifs

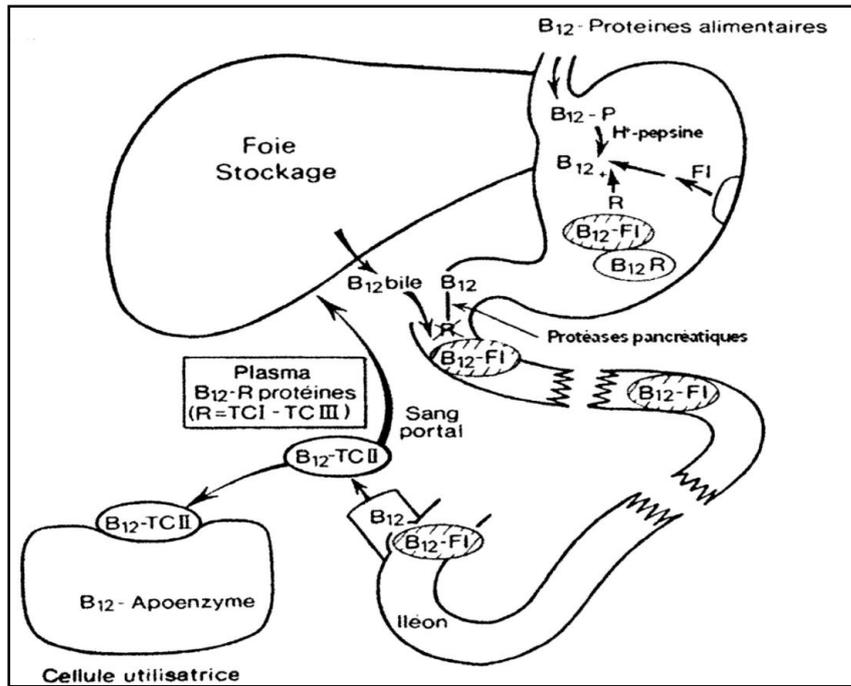


Figure N°4: Absorption digestive de la vitamine B12.
 FI: facteur intrinsèque, R: Protéine R, TC: transcobalamine.

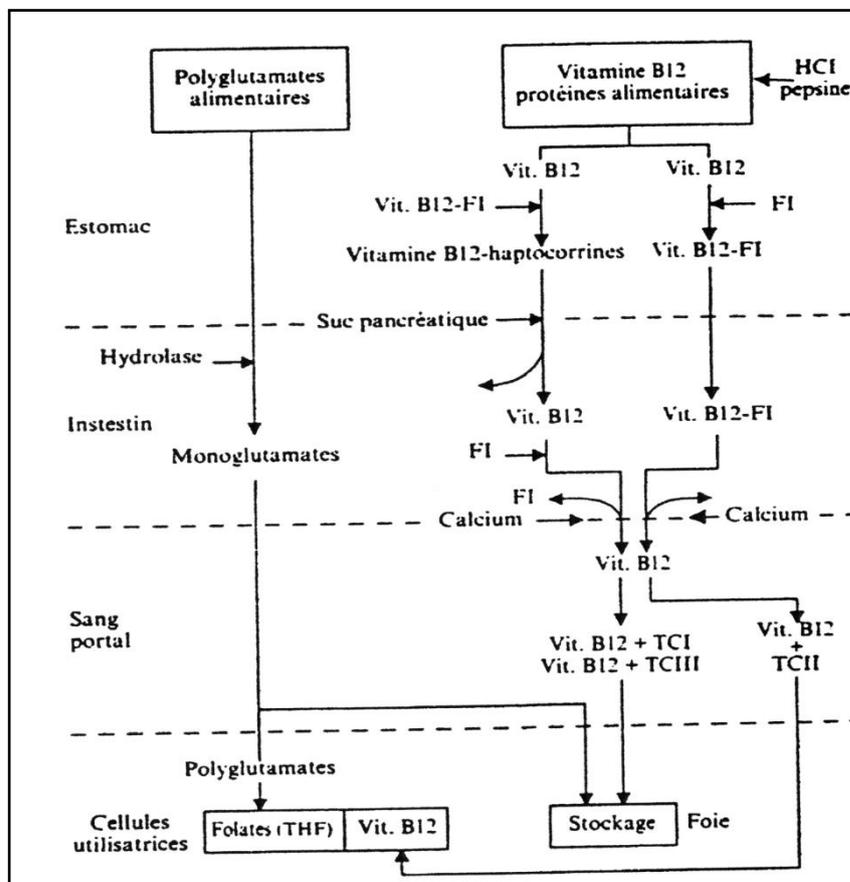


Figure N°5: Métabolisme de la vitamine B 12 et des folates.

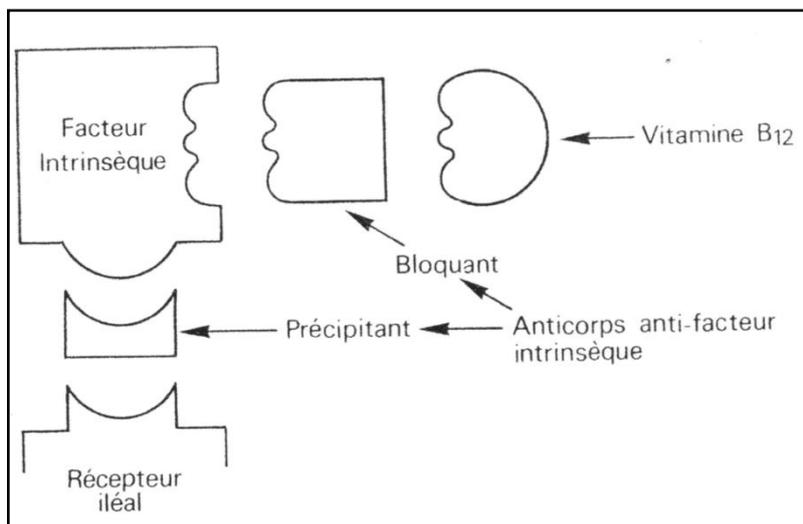


Figure N°6: Les deux types d'anticorps anti-facteur intrinsèque.

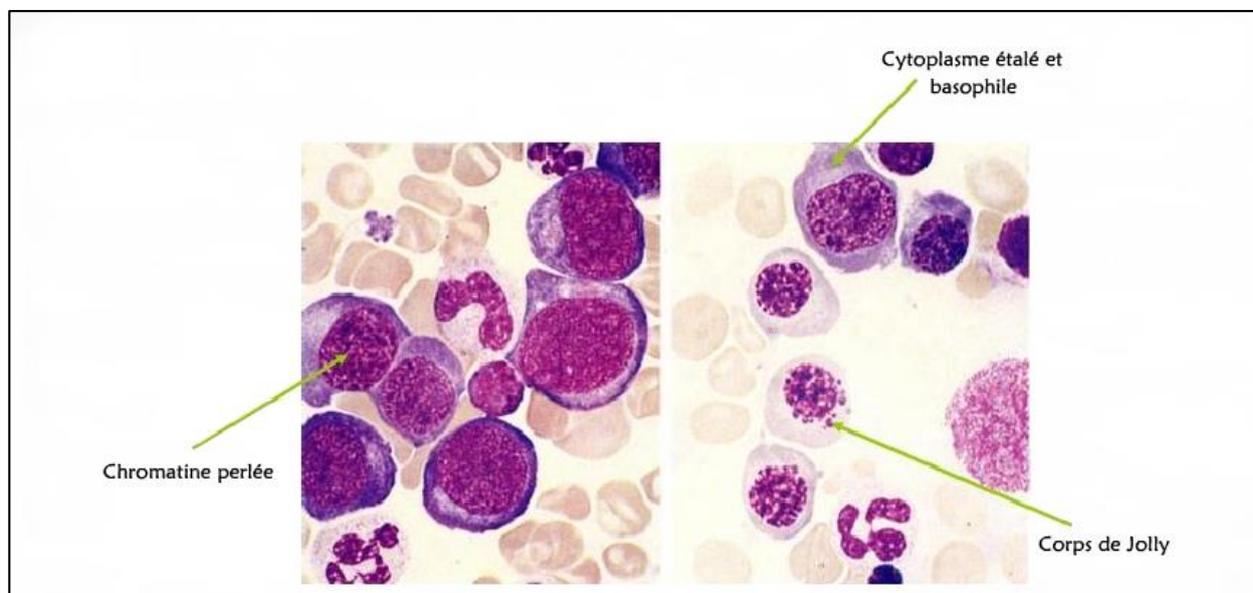


Figure N°7: Mégaloblastose médullaire (érythroblastes géants avec cytoplasme étalé, bleu basophile, chromatine perlée, corps de jolly)

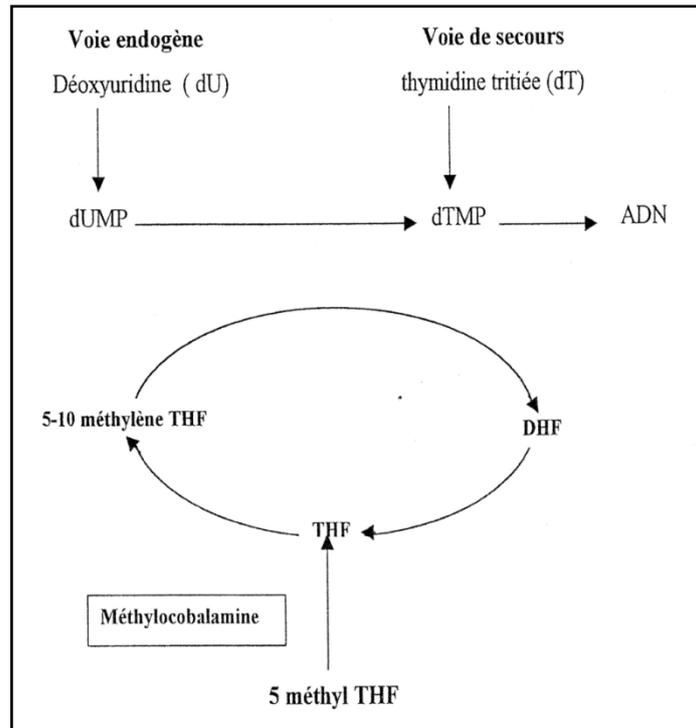


Figure N°8:
Mécanisme d'action du test de suppression par la déoxyuridine (test de dU suppression)

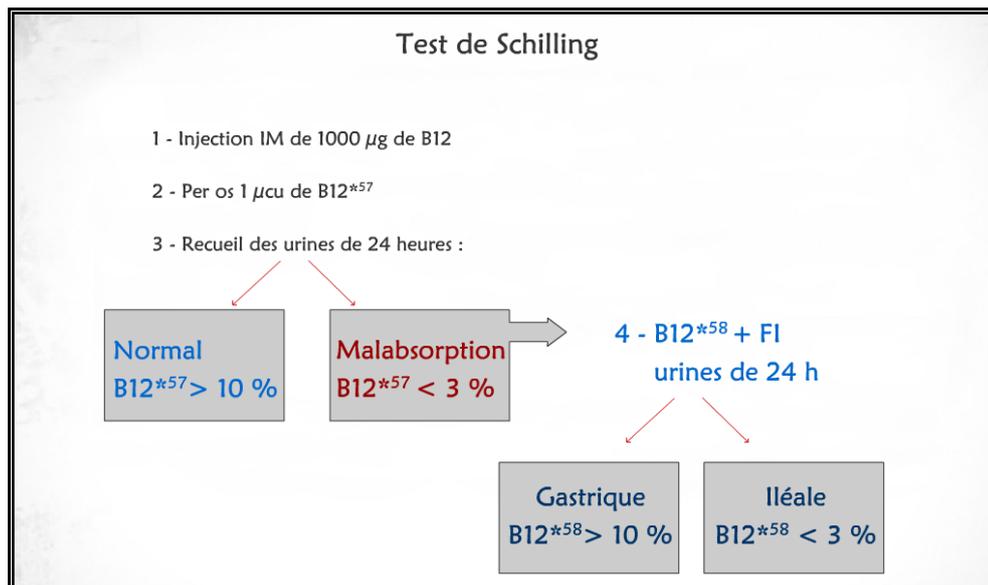


Figure N°9: Test de Schilling

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

1. Les formes biologiquement actives des vitamines B9 et B12 sont:

- A- l'acide tétrahydrofolique
- B- l'acide dihydrofolique
- C- l'hydroxycobalamine
- D- la méthylcobalamine
- E- la déoxyadénosylcobalamine

2. Les dosages vitaminiques de la vitamine B12 et des folates :

- A- peuvent être erronés au décours immédiat d'une transfusion sanguine
- B- peuvent être erronés chez les malades ayant reçu une vitaminothérapie
- C- doivent être réalisés dans le sérum et les érythrocytes pour les folates
- D- le dosage des folates sériques est le moyen le plus fiable pour estimer les réserves de l'organisme en folates
- E- sont indispensables devant une anémie mégalo-blastique

3. Les réserves de l'organisme en vitamines B 12 et en folates :

- A- se situent exclusivement dans le foie
- B- sont rapidement épuisables pour les folates
- C- sont rapidement épuisables pour la vit B12
- D- sont importants en comparaison avec les besoins journaliers pour la vit B12
- E- seront épuisées au cours de la grossesse et de la croissance

4. La vitamine B12 :

- A- est hydrosoluble
- B- est apportée essentiellement par les légumes verts crus
- C- est synthétisée en partie par les cellules hépatiques
- D- correspond à un groupe de cobalamines indispensables au bon déroulement de l'hématopoïèse
- E- la forme biologiquement active retrouvée dans le sérum est la cyanocobalamine.

5. Le myélogramme :

- A. Permet un résultat plus rapide que celui de la biopsie ostéo-médullaire
- B. Est adressé au laboratoire d'anatomie pathologique pour lecture
- C. Permet une analyse des cellules médullaires à travers diverses colorations
- D. De cellularité pauvre, impose la pratique d'une biopsie ostéo-médullaire
- E. Permet de mettre en évidence la mégalo-blastose médullaire

REPONSES :

QCM 1 : A, B, D, E

QCM 2 : A, B, C, E

QCM 3 : B, D, E

QCM 4 : A, D

QCM 5 : A, C, D, E

PHYSIOLOGIE DU GLOBULE ROUGE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	98
1. INTRODUCTION	99
2. STRUCTURE ET COMPOSITION DU GLOBULE ROUGE	99
2.1. La membrane érythrocytaire	99
2.2. Les principales voies métaboliques du globule rouge	100
2.3. L'hémoglobine	103
3. L'hémolyse :	106
3.1. L'hémolyse intratissulaire :	106
3.2. L'hémolyse intravasculaire :	107
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	108

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Décrire la morphologie normale du globule rouge.
2. Décrire les principales voies métaboliques du globule rouge
3. Décrire la structure de l'hémoglobine, sa composition depuis la vie intra-utérine jusqu'à l'âge adulte et ses anomalies
4. Décrire la fonction de l'hémoglobine

1. INTRODUCTION

Le rôle du globule rouge est un sac d'hémoglobine dont le rôle est de transférer l'oxygène du poumon aux tissus.

Résidu cellulaire sans noyaux, sans respiration cellulaire, sans possibilité de synthèse, il ne possède que les éléments du métabolisme indispensables à ses fonctions essentielles.

Il est composé d'une membrane et d'un cytosol qui contractent entre eux des interactions fondamentales indispensables au maintien de l'intégrité fonctionnelle de l'hémoglobine, du métabolisme énergétique, de l'équilibre ionique et des structures et fonctions membranaires.

2. STRUCTURE ET COMPOSITION DU GLOBULE ROUGE

2.1. La membrane érythrocytaire

2.1.1. La structure globale de la membrane

La membrane érythrocytaire est constituée :

- D'une double couche lipidique
- De 2 types de protéines :
 - périphérique
 - et insérées dans la bicouche lipidique

Elle est tapissée sur sa **face interne** par une structure protéique en réseau constituant le **squelette membranaire** servant au maintien de la **forme discoïde** de l'hématie et lui conférant sa **déformabilité** pour s'adapter aux vaisseaux les plus fins.

2.1.2. Les constituants de la membrane

a. Les lipides membranaires

Représentent environ 40 % du poids total de la membrane. Ils sont principalement constitués de :

- phospholipides (≈70 %)
- cholestérol (≈ 20 %)
- acides gras libres et glycolipides (≈ 10 %).

Les phospholipides, se répartissent en deux couches opposées par leurs groupements hydrophobes. Ils sont disposés de manière asymétrique dans la double couche : choline-phospholipides (phosphatidyl-cholines et sphingomyéline) dans le feuillet externe et aminophospholipides (phosphatidyl-sérines -procoagulantes- et phosphatidyl-éthanolamines) dans le feuillet interne. Les glycosphingolipides, exclusivement localisés dans le feuillet externe, sont des récepteurs ou des antigènes.

b. Les protéines membranaires

Sont réparties en 2 catégories :

➤ Les protéines extramembranaires (ou extrinsèques ou périphériques) :

Tapissent la face cytoplasmique de la membrane. Ce sont des protéines structurales constituant le cytosquelette fait de spectrine, actine, ankyrine et protéines 4.1 et responsable de la forme biconcave du globule rouge. La spectrine se lie par ses extrémités à l'actine, liaison facilitée par la protéine 4.1 (Schéma 1)

➤ Les protéines transmembranaires (ou intrinsèques ou intégrées) :

Sont insérées dans la bicouche lipidique, qu'elles peuvent traverser. La protéine bande 3 en est le constituant majeur (25 % des protéines membranaires). C'est une protéine de transport par son domaine extramembranaire. Par son domaine cytoplasmique, elle fixe l'ankyrine et les protéines 4.1 servant de point d'ancrage du squelette cytoplasmique (Schéma 1).

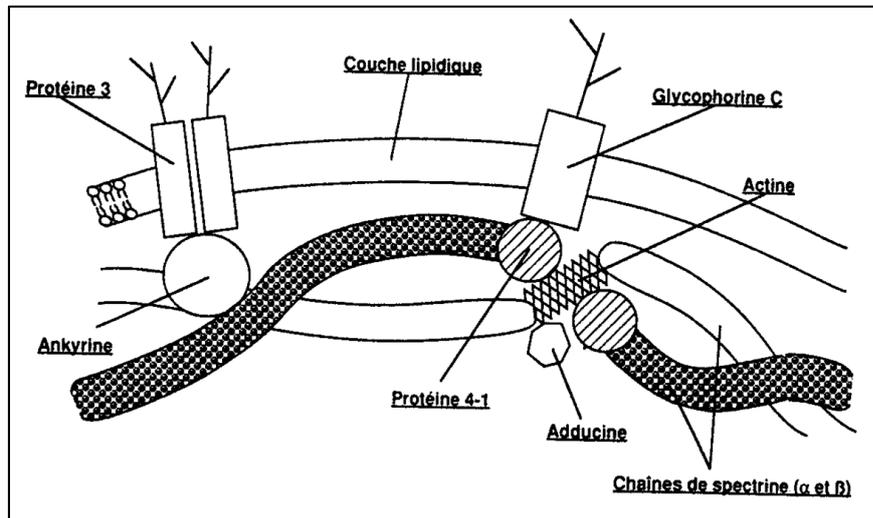


Schéma 1 : Structure membranaire du globule rouge

2.2. Les principales voies métaboliques du globule rouge

Dépourvu de respiration cellulaire, le globule rouge mur a comme métabolisme énergétique essentiel celui de la dégradation anaérobie du glucose.

Il existe une voie principale de glycolyse anaérobie, la voie directe d'Embden-Meyerhof sur laquelle sont branchées en dérivation (shunt) deux autres voies métaboliques :

- le shunt des pentoses,
- et le cycle 2,3-diphosphoglycérate de Rapaport et Lubering.

Le but du métabolisme énergétique est de :

- régénérer les systèmes protecteurs contre les agents oxydants : glutathion réduit et méthémoglobine réductase
- et de produire de l'ATP fournisseur d'énergie.

Le globule rouge est doté d'un stock enzymatique de naissance, qui s'épuise progressivement, contribuant à sa mort physiologique.

2.2.1. Le métabolisme énergétique

a. La voie directe d'Embden-Meyerhof

Seule source d'ATP dans le globule rouge, elle compte pour 90 % de la glycolyse. Le gain au bout de la chaîne est de 2 molécules d'ATP par molécule de glucose « brûlée ».

L'ATP, dans le globule rouge, a plusieurs rôles :

- Il est nécessaire à la glycolyse anaérobie pour la phosphorylation du glucose et du fructose 6-phosphate.
- Il intervient dans les échanges des cations et des lipides membranaires
- Il est impliqué dans la synthèse des purines et pyrimidine nucléotiques
- Dans une certaine mesure, il régule l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et la glycolyse anaérobie.

La voie d'Embden-Meyerhof fournit également du NADPH, co-enzyme de la méthémoglobine réductase (Schéma 2).

Elle aboutit à la formation d'acide lactique (réduction du pyruvate en lactate par la lactico-déshydrogénase) qui quitte l'hématie pour être catabolisé dans les cellules possédant des mitochondries et donc un cycle de Krebs, surtout au niveau du foie.

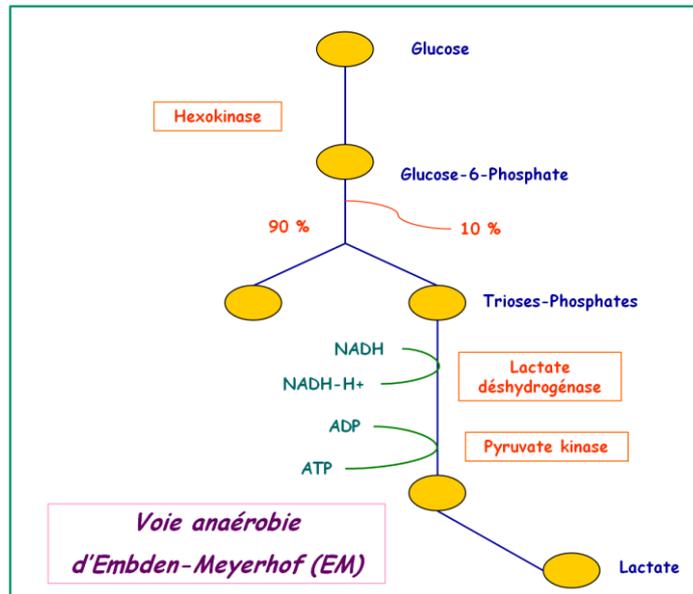


Schéma 2 : Voie d'Embden-Meyerhof

b. Le shunt des pentoses ou voie oxydative

Voie accessoire (10 % de la glycolyse) mais essentiel car la seule source de NADPH (nicotinamide-dinucléotide phosphate réduit) nécessaire au système d'oxydo-réduction du glutathion érythrocytaire (coenzyme de la glutathion réductase).

La production du NADPH dépend du fonctionnement de la première enzyme de cette voie : **la glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD)**. Un déficit de cette enzyme ou de celles du système du glutathion s'extériorise lors des agressions par les agents oxydants (Schéma 3).

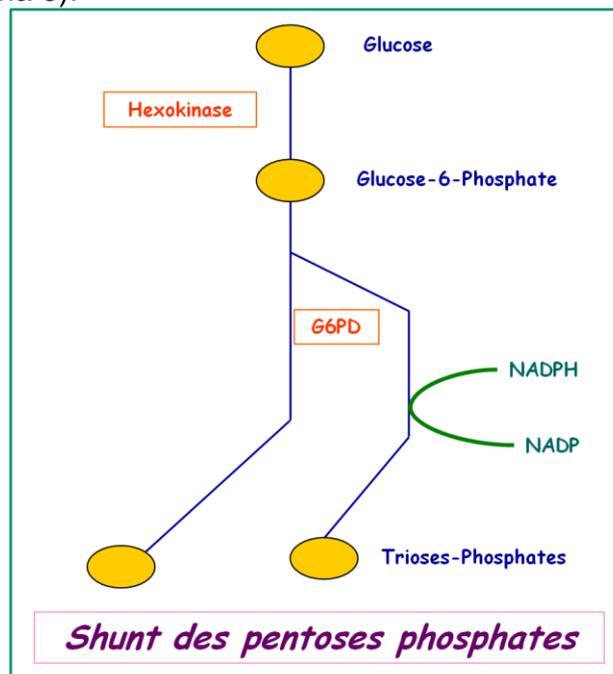


Schéma 3 : Le shunt des pentoses

c. Le cycle de 2,3-diphosphoglycérate de Rapaport-Lubering (Schéma 4)

Le rôle essentiel du 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) est de moduler l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène :

- Son augmentation réduit l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène
 - Sa diminution l'augmente.
- Il joue aussi un rôle dans la régulation de la glycolyse et dans la souplesse membranaire.

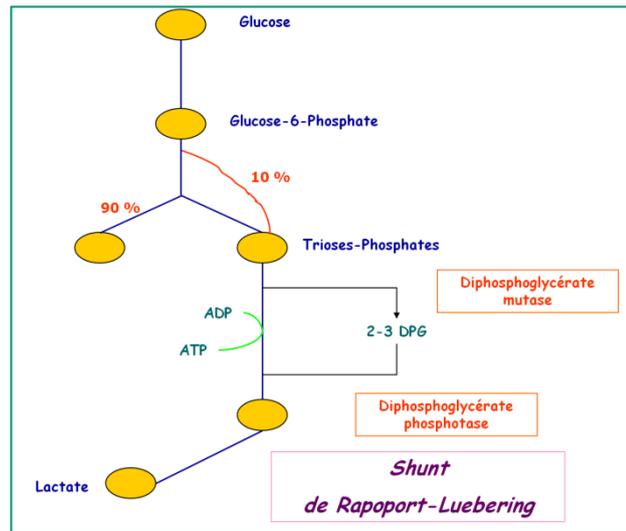


Schéma 4 : Le shunt de Rapoport-Luebering

d. Le métabolisme d'autres oses

Il est possible dans les globules rouges.

2.2.2. Les systèmes d'oxydoréduction

Sont indispensables à du globule rouge et au maintien de l'hémoglobine sous sa forme fonctionnelle. Ils utilisent les nicotinamides dinucléotides formés dans la glycolyse anaérobie -NAD/NADH₂ et NADP/NADPH₂- et le cycle du glutathion.

a. Le système d'oxydoréduction du glutathion (Schéma 5)

La glutathion réductase, en maintenant le glutathion à l'état réduit, protège l'hémoglobine et les lipides membranaires contre l'oxydation.

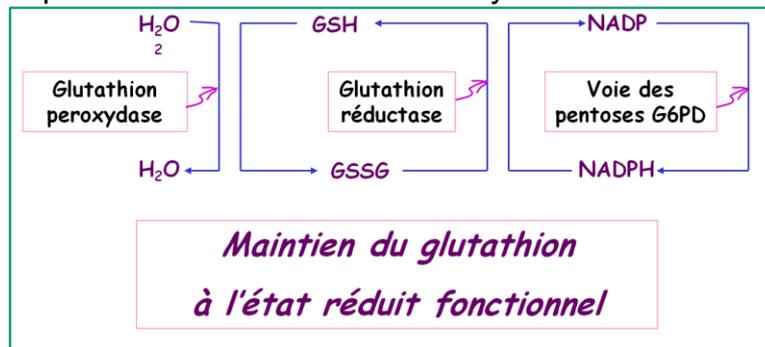


Schéma 5 : Le système du glutathion

b. La méthémoglobine réductase

Les méthémoglobines réductases assurent la retransformation de la méthémoglobine (hémoglobine à fer ferrique Fe⁺⁺⁺) inactive, en hémoglobine Fe⁺⁺ apte au transport de l'oxygène (Schéma 6).

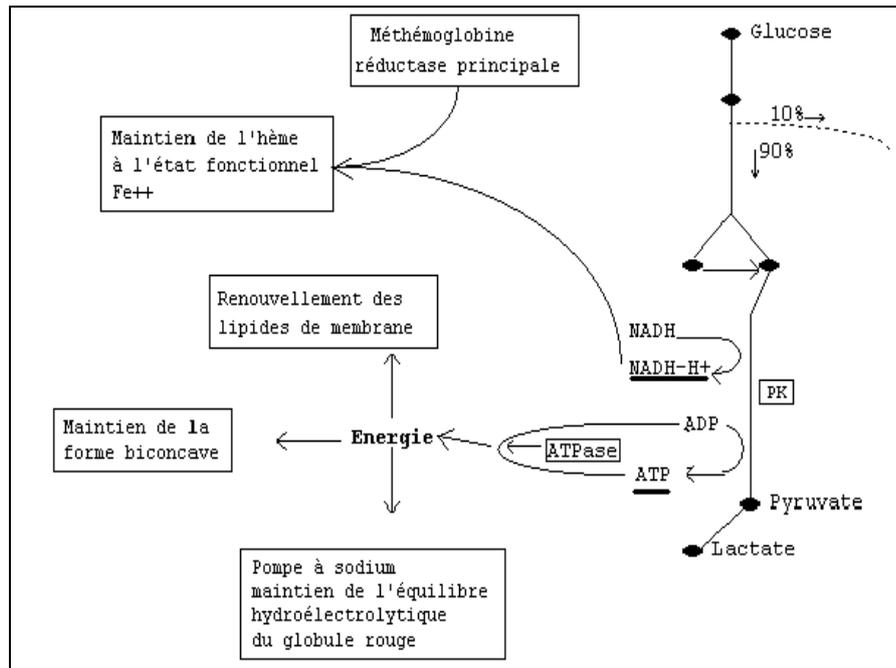


Schéma 6 : La méthémoglobine réductase

Le schéma 7 représente les 5 principales voies métaboliques du globule rouge et leur fonction.

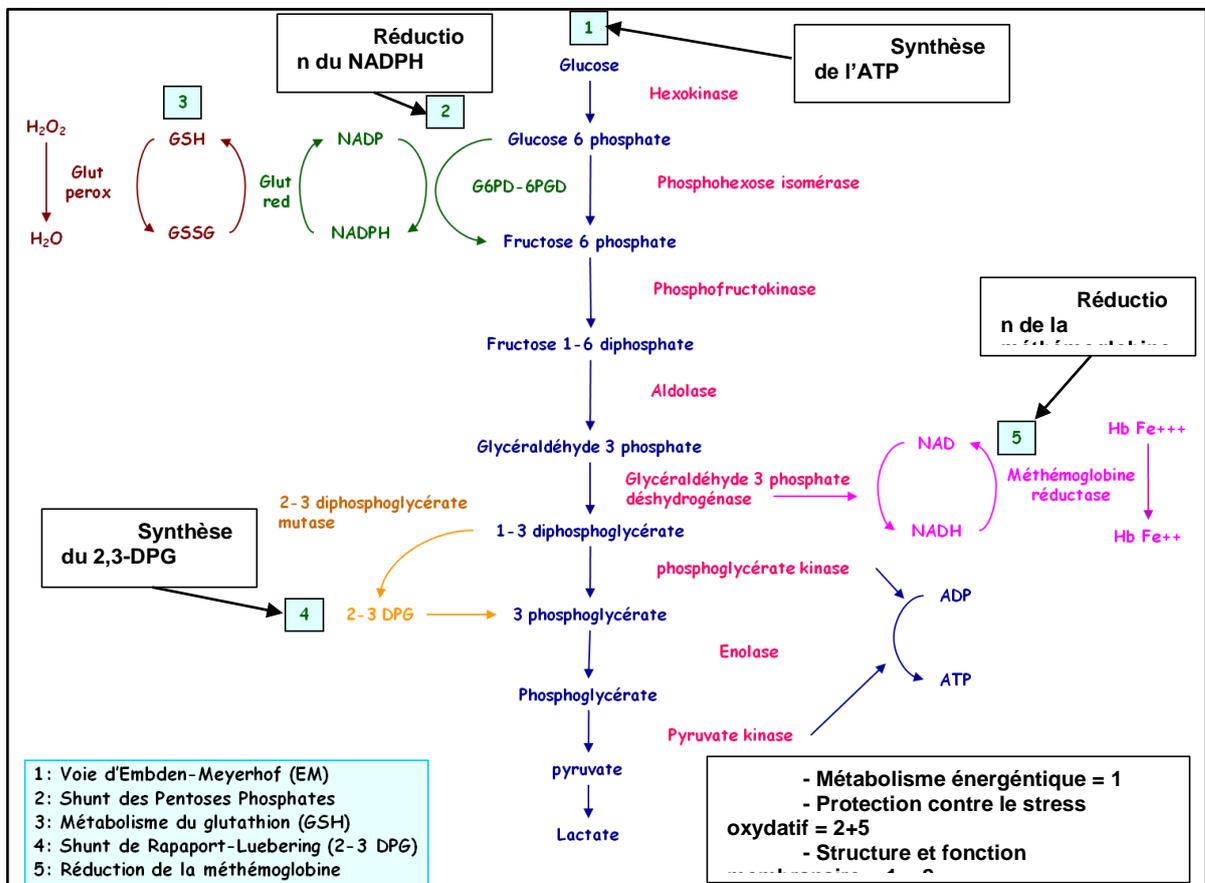


Schéma 7 : Les cinq principales voies métaboliques du globule rouge et leur fonction.

2.3. L'hémoglobine

L'hémoglobine, pigmente par sa couleur le globule rouge. Elle représente 95 % des protéines intracellulaires. Sa fonction essentielle est de transporter l'oxygène.

2.3.1. Structure de l'hémoglobine

L'hémoglobine est un tétramère (Schéma 8) formé par l'union de :

- 4 groupements prosthétiques d'hème :
 - pigment ferroporphinique
 - formé par la protoporphyrine IX à laquelle est lié un atome de fer ferreux.
- 4 chaînes polypeptidiques de globine.
- Les chaînes sont identiques deux à deux

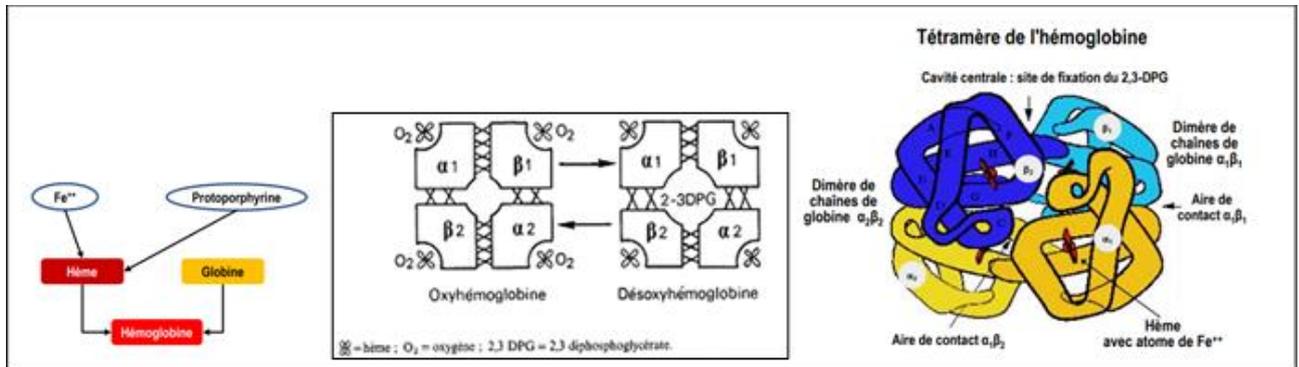


Schéma 8 : Structure de l'hémoglobine

Les hémoglobines humaines adultes comprennent deux chaînes α de globine couplées à deux chaînes non α , il s'agit de :

- Chaînes β dans l'hémoglobine adulte majeure A (Hb A : $\alpha_2\beta_2$).
- Chaînes γ dans l'hémoglobine fœtale F (Hb F : $\alpha_2\gamma_2$).
- Chaînes δ dans l'hémoglobine adulte mineure A₂ (Hb A₂ : $\alpha_2\delta_2$).

La structure secondaire est en hélice. La structure tertiaire est globulaire, ménageant au centre une poche hydrophobe où s'insère l'hème, le Fe^{2+} est lié au sommet des noyaux pyrroliques de la protoporphyrine. La structure quaternaire est tétramérique entre les chaînes de globine.

2.3.2. Ontogenèse de l'hémoglobine

Les deux paires de gènes des chaînes :

- α sont situées sur le chromosome 16
- non α sur le chromosome 11.

La synthèse de chaînes α et non α est parfaitement régulée : il y a autant de chaînes α que non α .

La synthèse de l'hémoglobine commence dans les érythroblastes et s'achève dans les réticulocytes.

La production de l'hémoglobine chez l'homme est caractérisée par deux changements majeurs dans la composition de l'hémoglobine.

- Pendant la vie embryonnaire :

→ Durant les 3 1^{ers} mois de la grossesse : hémoglobines embryonnaires :

- Gower 1 ($\zeta_2\varepsilon_2$)
- Gower 2 ($\alpha_2\varepsilon_2$)
- Portland ($\zeta_2\gamma_2$).

→ Dans les 6 derniers mois : ces hémoglobines sont progressivement remplacées par :

- l'hémoglobine fœtale (Hb F : $\alpha_2\gamma_2$)

→ A la période périnatale : la transition se fait entre l'Hb F et l'Hb A (adulte), et se termine à la fin de la 1^{ère} année de vie.

- A la naissance, l'être humain possède :

- 80 % d'Hb F

- 20 % d'Hb A
- 0 % d'Hb A₂.
- **A partir de l'âge de 1 an :** la formule est adulte faite de
 - 97 % d'Hb A
 - 2 à 3 % d'Hb A₂
 - traces (<1%) d'Hb F qui continue à être synthétisée en faible quantité chez l'adulte.

L'hémoglobine A2 est :

 - augmentée dans les thalassémies
 - diminuée dans les carences martiales et certaines anémies réfractaires ou érythro-leucémies.

L'hémoglobine F est :

 - augmentée dans les thalassémies et dans un grand nombre d'hémopathies congénitales et acquises.

	STRUCTURE DE LA GLOBINE	HEMOGLOBINE
Hémoglobines embryonnaires	$\zeta_2 \epsilon_2$	Gower 1
	$\zeta_2 \gamma_2$	Portland
	$\alpha_2 \epsilon_2$	Gower 2
Hémoglobines de l'adulte	$\alpha_2 \beta_2$	A ₁ (96 – 98%)
	$\alpha_2 \delta_2$	A ₂ (1,5 – 3,0%)
	$\alpha_2 \gamma_2$	F (< 1%)

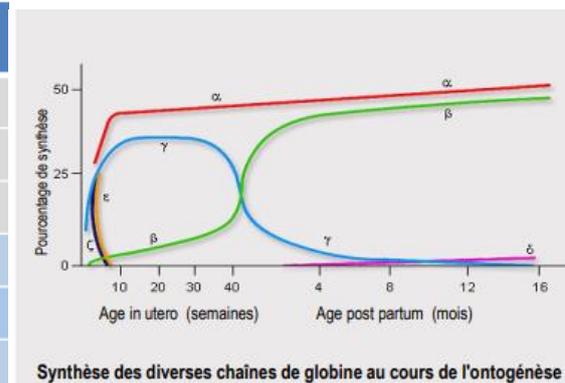


Schéma 9 : Ontogénèse des chaînes de l'hémoglobine

2.3.3. Fonction de l'hémoglobine

- Elle transporte :
- L'oxygène moléculaire (O₂) des poumons aux tissus
 - Et le gaz carbonique (CO₂) des tissus aux poumons.
- L'affinité pour l'O₂ varie dans le même sens que la pression partielle en O₂, elle :
- Est médiocre aux faibles PO₂ ce qui permet la délivrance de l'O₂ aux tissus.
 - Augmente considérablement aux fortes PO₂ (courbe de dissociation de l'hémoglobine sigmoïde. Schéma 10).
- Normalement, la P₅₀ (PO₂ pour laquelle l'hémoglobine est saturée à 50 %) est de 26 mmHg. In vivo, la teneur artérielle en O₂ est de 95 mmHg avec une saturation à 95% alors que le sang veineux a une pression partielle de 40 mmHg et une saturation de 70 %.
- Le 2,3-DPG, formé lors de la glycolyse anaérobie, se fixe dans la cavité centrale de l'hémoglobine désoxygénée à la faveur d'un relâchement des liaisons $\alpha_1\beta_2$ et $\alpha_2\beta_1$. Cette fixation entraîne une baisse de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ :
- La courbe d'affinité pour l'oxygène glisse à droite, avec plus grande délivrance d'O₂, en cas de fortes concentrations en 2,3-DPG, H⁺ ou CO₂, ainsi que dans certaines hémoglobinopathies telles que la drépanocytose.
 - Elle glisse au contraire à gauche avec moins bonne délivrance en cas de baisse du 2,3-DPG (sang conservé, thalassémie riche en Hb F qui fixe mal le 2,3-DPG, hémoglobines hyperaffines) (Schéma 10).

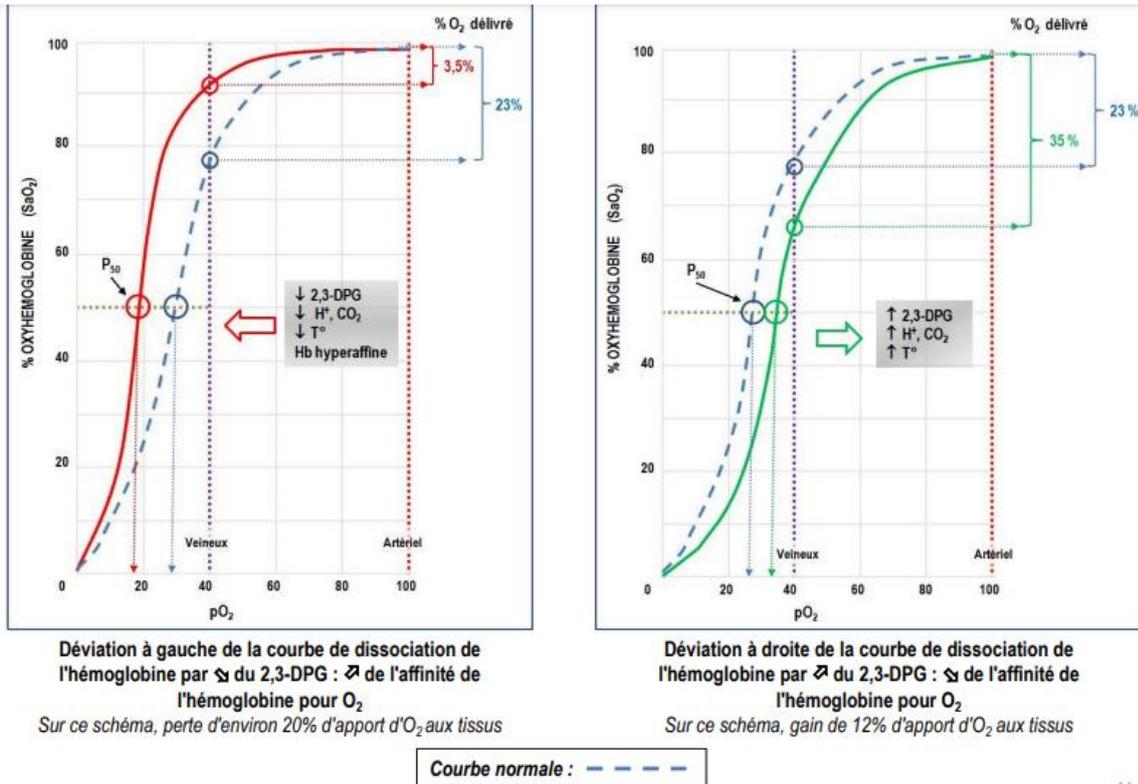


Schéma 10 : Courbe de dissociation de l'hémoglobine

3. L'hémolyse :

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique dans le milieu extérieur. L'hémolyse physiologique est un phénomène essentiellement intratissulaire. Une faible partie (10 à 20 %) est intravasculaire.

3.1. L'hémolyse intratissulaire :

a. Siège et mécanisme :

Chez le sujet normal, la majorité des globules rouges sont détruits, au bout d'une durée de vie moyenne de 120 jours, par phagocytose dans les macrophages de la moelle osseuse, mais aussi du foie et de la rate. Cette phagocytose porte sur des globules rouges dont le vieillissement se traduit par des modifications :

- **Biochimiques** : diminution du contenu enzymatique, ralentissement métabolique, perte des lipides membranaires, phénomènes oxydatifs.
- **Morphologiques** : tendance à la sphéricité par réduction de la surface membranaire et/ou hyperhydratation.
- **De la plasticité** : diminution de la déformabilité des globules rouges.

b. Conséquence de l'hémolyse :

La molécule d'hémoglobine est rapidement catabolisée. L'hème libère son fer, aussitôt repris par la transferrine plasmatique qui le délivre aux érythroblastes médullaires. La partie héminique est transformée en bilirubine.

La bilirubine ainsi formée, insoluble dans l'eau mais soluble dans les lipides est transportée par l'albumine plasmatique jusqu'au foie où elle est glycuronoconjuguée et excrétée dans la bile. La plus grande partie est éliminée dans les selles. Une petite quantité d'urobiline est résorbée par l'intestin et passe dans les urines. Normalement, il n'y a pas de bilirubine conjuguée dans le plasma. En cas de blocage de l'élimination

de la bilirubine conjuguée, il y a reflux de bilirubine conjuguée dans le sang, responsable de l'ictère. La bilirubine conjuguée liée à l'albumine est transportée vers le rein ; elle est éliminée par les urines, qu'elle colore (Schéma 11).

Chez le nouveau-né et plus encore chez le prématuré, la glucurono-conjugaison se fait mal (insuffisance enzymatique). Il en résulte une augmentation de la bilirubine non conjuguée, responsable de l'ictère physiologique du nouveau-né.

3.2. L'hémolyse intravasculaire :

Une faible partie de l'hémolyse se déroule au sein même de la circulation sanguine. L'hémoglobine est libérée dans le plasma, où elle forme un complexe avec l'**haptoglobine**, synthétisée par le foie. Ce complexe, stable et soluble, sera capté par l'hépatocyte au niveau duquel l'hémoglobine est dégradée. La taille du complexe haptoglobine-hémoglobine ne lui permet pas de traverser le glomérule rénal.

Si la capacité de fixation de l'haptoglobine est débordée, l'hémoglobine en excès reste libre et traverse le filtre glomérulaire. Elle est réabsorbée par les cellules des tubules rénal qui la catabolisent et se chargent de dépôts de fer. Une hémossidérinurie apparaît quelques jours plus tard lorsqu'elles desquament dans les urines. La résorption tubulaire d'hémoglobine comporte un seuil (hémoglobine plasmatique > 1,35 g/l) au-delà duquel l'hémoglobine passe dans les urines (hémoglobinurie).

L'hémoglobine libérée dans la circulation peut être éliminée par une troisième voie faisant intervenir l'hémopexine et l'albumine (Schéma 11).

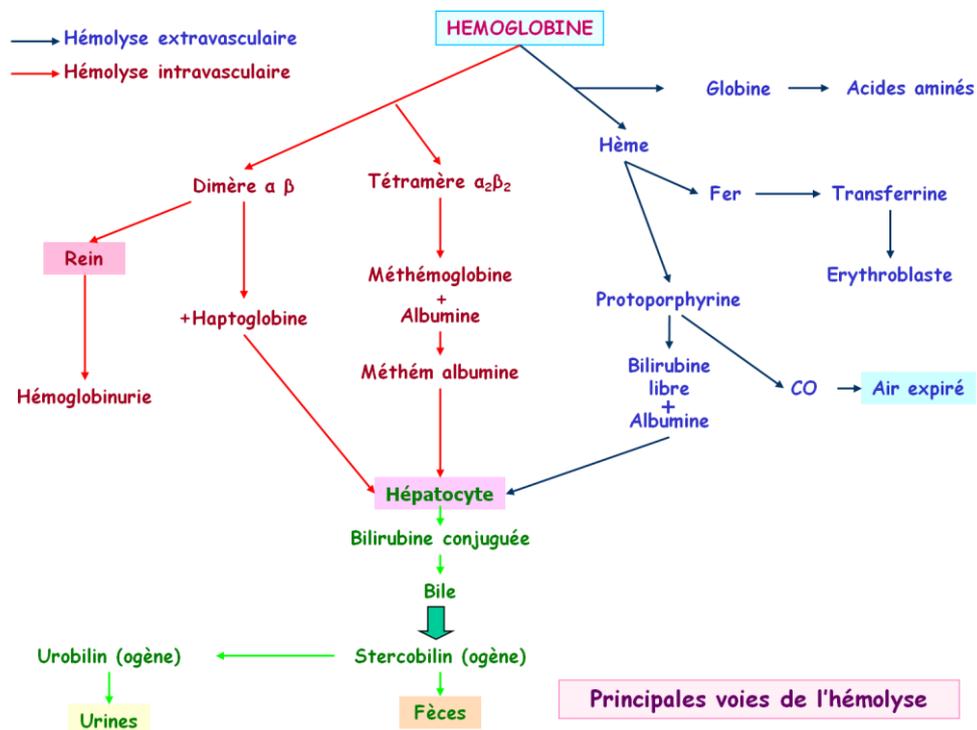


Schéma 11 : Principales voies de l'hémolyse

TESTS D'AUTOEVALUATION

QROC

1. Citer les trois principaux composants qui constituent un globule rouge.
2. Citer les voies du métabolisme énergétique du globule rouge.
3. Citer les voies du système d'oxydo-réduction du globule rouge

Réponses :

1/ - La membrane érythrocytaire

- Les principales voies métaboliques du globule rouge = les enzymes
- L'hémoglobine

2/ - La voie directe d'Embden-Meyerhoff

- le shunt des pentoses ou voie oxydative
- le cycle du 2,3-DPG de Rapaport et Lubering

3/ - Le système d'oxydo-réduction du glutathion

- Les méthémoglobine réductase

PHYSIOPATHOLOGIE DES ANEMIES

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	109
1. INTRODUCTION	110
2. PHYSIOPATHOLOGIE DES ANEMIES.....	110
2.1. Caractérisation de l'anémie.....	110
2.2. Mécanismes physiopathologiques des anémies	111
2.3. Mécanismes physiopathologiques des symptômes anémiques	112
2.4. La conduite du diagnostic	113
3. CONCLUSION :.....	116
TESTS D'EVALUATION	117

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Détailler les données permettant de caractériser une anémie
2. Détailler le mécanisme physiopathologique des symptômes anémiques
3. Détailler les mécanismes physiopathologiques des anémies
4. Détailler la conduite diagnostique devant une anémie

1. INTRODUCTION

A l'état normal, l'hémolyse physiologique est compensée par l'érythropoïèse. Cet équilibre est rompu et entraîne une anémie, en cas de :

- pertes exagérées de globules rouges
 - par hémorragie
 - ou excès de destruction
- et en cas de défaut de la production médullaire.

2. PHYSIOPATHOLOGIE DES ANEMIES

L'anémie est définie par la **diminution du taux d'hémoglobine** au-dessous de valeurs de référence variables selon l'âge et le sexe :

- Homme	< 13	d/dL
- Femme	< 12	g/dL
- Femme enceinte	< 10,5	g/dL
- Nouveau-né	< 14	g/dL
- Enfant entre 2 et 24 mois	< 10	g/dL
- Enfant entre 2 et 6 ans	< 11	g/dL
- Enfant > 6 ans	< 12	g/dL
- Femme > 70 ans	< 11,5	g/dL
- Homme > 70 ans	< 12,5	g/dL

Cette définition n'est valable qu'en présence d'un volume plasmatique total (VPT) normal (cf. infra).

2.1. Caractérisation de l'anémie

2.1.1. Constantes érythrocytaires

Le volume globulaire moyen (**VGM**) permet de définir une anémie :

- macrocytaire : $VGM \geq 100$ FI (ou μ^3) (≥ 95 chez l'enfant)
- normocytaire : $80 < VGM < 100$ FI (entre 75 et 95 chez le n'fant)
- microcytaire : $VGM \leq 80$ FI (≤ 75 chez l'enfant)

La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (**TCMH**) plus que la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (**CCMH**) permet de définir une anémie :

- hypochrome : $TCMH \leq 27$ pg (≤ 25 chez l'enfant)
- normochrome : > 27 pg
- une anémie n'est jamais hyperchrome

Ces constantes sont cependant des moyennes, et peuvent induire une caractérisation erronée en présence de plusieurs populations de globules rouges. D'où l'utilité du RDW (indice de distribution du volume des globules rouges donné par les analyseurs automatiques).

Le RDW est le coefficient de variation du volume des globules rouges qui mesure l'hétérogénéité de la population érythrocytaire. La valeur normale du RDW est de 12 à 14 %, son augmentation au-delà de 15 % signe l'existence d'une anisocytose.

2.1.2. Réticulocytes

La valeur absolue du taux de réticulocytes (normal entre 25 et 100 G/L) permet de définir une anémie :

- régénérative : réticulocytes > 120 G/L
- arégénérative : réticulocytes > 120 G/L

NB : Les réticulocytes étant un peu plus grands que les hématies, toute hyperréticulocytose entraîne une augmentation modérée du VGM.

2.1.3. Eliminer une anémie masquée ou une fausse anémie

a. La fausse anémie par hémodilution

L'anémie peut être simulée ou majorée par une hémodilution du fait de l'augmentation du volume plasmatique total, dans les circonstances suivantes :

- Syndromes œdémateux, anasarque quelle qu'en soit la cause : Insuffisance cardiaque, syndromes néphrotiques, cirrhose, hypoprotidémie ...
- Apports hydriques parentéraux excessifs
- grossesse, à partir du 2^{ème} trimestre
- splénomégalie volumineuse avec séquestration splénique d'éléments cellulaire et hypervolémie
- hyperprotidémie importante augmentant la pression oncotique du plasma comme c'est le cas dans la maladie de Waldenström

b. L'anémie masquée

- L'anémie masquée par une hémococoncentration : c'est le cas de la déshydratation. La protidémie élevée permet de redresser le diagnostic.
- Hémorragie aigue avec réduction du volume plasmatique total

2.2. Mécanismes physiopathologiques des anémies

Une anémie peut être de cause :

- Centrale : due à un défaut de production médullaire
- Périphérique : par raccourcissement de la durée de vie des hématies par pertes exagérées :
 - Soit par hémolyse
 - Soit par hémorragie

2.2.1. Les anémies centrales : défaut de production médullaire de globules rouges

Elles sont dues à un défaut de production soit par atteinte quantitative ou qualitative des cellules souches hématopoïétiques soit par atteinte de son environnement. L'anémie est non régénératives ou arégénérative. Il peut s'agir :

a. D'une insuffisance quantitative de l'érythropoïèse

L'insuffisance de l'érythroblastopénie peut être :

- Isolée
 - constitutionnelle
 - ou acquise
- ou dans le cadre d'une insuffisance médullaire globale (Aplasie médullaire) :
 - constitutionnelle
 - ou acquise par envahissement médullaire : leucémie, lymphome, fibrose, métastase d'un cancer, myélofibrose

b. D'une insuffisance qualitative de l'érythropoïèse (érythropoïèse inefficace ou dysérythropiès)

La moelle osseuse est normo voire hypercellulaire, mais les cellules produites sont qualitativement anormales. Il existe alors un taux élevé d'avortement intramédullaire : c'est l'érythropoïèse (touche la ligné rouge) ou l'hématopoïèse (touche toutes les lignées) inefficace. Un taux élevé d'érythroblastes médullaire contraste avec un taux non augmenté de réticulocytes.

- trouble de la synthèse de l'ADN : carence en vitamine B12, folates, amino-acides
- troubles de la synthèse de l'hémoglobine : carence en fer ou trouble de l'utilisation du fer des anémies inflammatoires ou des anémies sidéroblastiques.

c. D'un trouble de la régulation de l'érythropoïèse

- Insuffisance rénale (déficit en érythropoïétine)
- insuffisance hypophysaire

- insuffisance thyroïdienne

d. D'anomalies des cellules souches

- dysérythropoïèses congénitales
- dysmyélopoïèses acquises

2.2.2. Les anémies périphériques : pertes exagérées

La production médullaire est normale voire augmentée (compensation). L'anémie est régénérative. Elles sont le fait d' :

a. Hémorragies

- Distillantes : l'anémie est modérément régénérative, hypochrome, microcytaire, hyposidérémique.
- Aigues et abondantes :

b. Hyperhémolyse ou hémolyse pathologique

L'hémolyse peut être :

- intra
- ou extravasculaire
- corpusculaire (c-à-d due à une anomalie du globule rouge) congénitale ou acquise
- ou extracorpulaire : causes les plus fréquentes

NB : Dans les hémolyses, comme dans les hémorragies aiguës :

- L'anémie est fortement régénérative, normochrome, normocytaire et hypersidérémique.
- L'hyperréticulocytose n'apparaît qu'au bout de 2 à 3 jours
- Dans les pertes hémorragiques aiguës et abondantes, l'anémie est faussement compensée par un volume plasmatique normal durant les 1^{ères} heures +++

i. **Les hémolyses de cause corpusculaire**

- Sont presque toujours d'origine congénitale, liées à une anomalie du globule rouge de type :
 - Membranaire : exp : sphérocytose héréditaire.
 - Hémoglobinique : drépanocytose, thalassémie.
 - Enzymatique : déficit en G6PD ou en pyruvate-kinase.
- La seule hyperhémolyse acquise, de cause corpusculaire est la maladie de Marchiafava- Micheli ou hémoglobinurie paroxystique et nocturne (HPN).

ii. **Les hémolyses de cause extracorpulaire**

- sont toujours acquises. Elles peuvent être liées à un facteur :
- Immunologique : Anémie hémolytique auto-immune
Hémolyse immuno-allergique médicamenteuse
Accident transfusionnel
Iso-immunisation foetomaternelle
- Infectieux : bactérien ou parasitaire (paludisme).
- Toxique : industriel (arsenic, nitrobenzènes...), domestique (chlore, cuivre, plomb → saturnisme,...), médicamenteux (sulfamides, phénacétine,...), végétal (champignons), animal (venin de serpents), brûlures étendues et gelures.
- Mécanique : prothèse valvulaire
- Microangiopathiques : éclampsie, cancer, purpura thrombotique thrombocytopénique (syndrome de Moschowitz).

2.3. Mécanismes physiopathologiques des symptômes anémiques

Quelle que soit la cause, les conséquences d'une anémie sont identiques.

- Son seul symptôme direct est la pâleur par baisse du taux d'hémoglobine.
- Les signes fonctionnels, en rapport avec l'hypoxie tissulaire, et l'hypovolémie par fois associée dépendent du degré de l'anémie, de sa rapidité d'installation et de l'adaptation individuelle de l'organisme.

2.3.1. Hypovolémie

Dans l'hémorragie aiguë, l'hypovolémie est l'élément essentiel ; non corrigée elle aboutit à l'état de choc. Dans l'hyperhémolyse aiguë, un état de choc est possible, il est plus la conséquence de l'hyperhémolyse que celle de l'anémie.

2.3.2. Hypoxie

Dans les anémies d'installation plus progressive, l'hypoxie est l'élément déterminant. Elle est responsable de :

- Signes neurosensoriels : asthénie, céphalées, vertiges, bourdonnements d'oreille, flou visuel à type de scotoms (mouches volantes) jusqu'au coma en cas d'anémie profonde
- de dyspnée d'effort
- de troubles liés à une insuffisance circulatoire cérébrale
- à une ischémie myocardique ou à une insuffisance cardiaque chez le sujet âgé.

2.3.3. Adaptation à l'anémie

Les mécanismes compensateurs interviennent à deux niveaux :

- Au niveau extra-érythrocytaire : immédiate par redistribution du volume sanguin afin d'augmenter l'oxygénation tissulaire là où elle est le plus nécessaire (territoires préférentiels : cerveau et cœur essentiellement, aux dépens d'autres territoires mésentérique et cutané). Se manifeste par :
 - Tachycardie = accélération de la fréquence cardiaque par augmentation du débit cardiaque
 - Polypnée superficielle par accélération de la fréquence de la ventilation pulmonaire
 - une hypotension
 - apparition d'un souffle systolique anorganique.
- Au niveau intra-érythrocytaire :
 - augmentation de la 2,3-DPG → diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ → libération optimale de l'O₂ vers les tissus.
 - hyperproduction d'érythropoïétine → augmentation de l'érythropoïèse.

2.3.4. Signes de tolérance de l'anémie

Différents facteurs contribuent à réduire l'adaptation et la tolérance de l'anémie :

- l'âge avancé
- un mauvais état cardio-vasculaire et notamment une insuffisance coronarienne préexistante
- une insuffisance respiratoire
- enfin l'intensité et la rapidité d'installation de l'anémie

Les signes d'intolérance sont :

- fonctionnels et cliniques : dyspnée au repos ou au moindre effort, exacerbation des signes neurosensoriels, douleurs angineuses, troubles de la conscience et coma et signes d'insuffisance cardiaque
- la transfusion est alors indiquée

2.4. La conduite du diagnostic

Elle nécessite toujours d'être orientée par :

- une enquête anamnestique et clinique soignée.
- Des examens biologiques sont réalisés en suivant un raisonnement méthodique.
- Se fait impérativement avant tout traitement intempestif

2.4.1. Les anémies hypochromes microcytaires

Sont les plus fréquentes des anémies. Les réticulocytes ne sont pas discriminatifs. La ferritinémie est l'élément le plus important (plus que le fer sérique) avec la sidérophiline totale et son coefficient de saturation.

Elle est liée à une anomalie de synthèse de l'hémoglobine :

- **Anémie ferriprive** (= carence en fer = carence martiale) par diminution de synthèse de l'hémoglobine.
- **Anémie inflammatoire** : par séquestration du fer dans les macrophages → défaut d'utilisation
- **Syndromes thalassémiques** : anomalie de synthèse de la globine
- **Anémie sidéroblastique** : défaut d'utilisation du fer par les érythroblastes

Pour pouvoir suivre la démarche diagnostique se référer au schéma 1.

a. Ferritine (ou fer sérique) basse

- **La ferritine plasmatique est basse** : il s'agit d'une **carence martiale** :
- La sidérophiline totale est augmentée
- Le coefficient de saturation de la sidérophiline est bas.
- Le RDW est nettement élevé, de 15 à 22 %
- Le myélogramme est inutile. La TCMH baisse avant la diminution du VGM et l'installation de l'anémie (carence en fer puis hypochromie puis microcytose puis anémie). De même, le RDW s'élève avant l'apparition de la microcytose.
- **La ferritine plasmatique est normale ou élevée** : il s'agit d'une **anémie inflammatoire** :
- La sidérophiline totale normale ou abaissée
- Le coefficient de saturation de la sidérophiline est normal
- Le RDW est normal

La ferritinémie est augmentée au cours des inflammations et des néoplasiques → la seule ferritinémie normale ou élevée ne permet pas d'exclure une carence en fer.

b. Ferritine (ou fer sérique) normale ou élevée :

- La ferritine est normale ou élevée
- La sidérophiline est normale
- Le coefficient de saturation de la sidérophiline est normal ou élevé
- La cause la plus fréquente est représentée par les thalassémies :
- Le RDW est normal ou discrètement élevé (de 14 à 16 %).
- Les réticulocytes sont élevés
- L'électrophorèse de l'hémoglobine confirme le diagnostic.
- Plus rarement, il s'agit d'une anémie sidéroblastique :
- Le RDW est augmenté
- Le myélogramme montre une hyperplasie érythroblastique avec, à la coloration de Perls des sidéroblastes en couronne.

2.4.2. Les anémies normochromes et normocytaires

La démarche diagnostique dépend du taux de réticulocytes.

a. L'anémie est régénérative : (réticulocytes > 120 . 10⁹/l) cas habituel.

- **L'anémie hémorragique** :
 - Régénérative au bout de 2 à 3 jours,
 - s'accompagne parfois d'une polynucléose et d'une hyperbasophilie d'entraînement.
 - Le contexte clinique permet en général le diagnostic.
 - Le RDW est normal.
- **L'hyperhémolyse** : doit être recherchée sur des signes
 - cliniques : subictère, splénomégalie, histoire familiale, contexte ethnique)
 - et biologiques (l'augmentation de la bilirubine non conjuguée et la chute de l'haptoglobine). Une hémoglobinémie et une hémoglobinurie

peuvent se voir en cas d'hémolyse intravasculaire massive. Le RDW est élevé.

- **Régénération d'une anémie centrale** (Exp : traitement substitutif d'une carence, post-chimiothérapie)

b. L'anémie est arégénérative ou peu régénérative : moins habituel

Après avoir éliminé les anémies dues à l'insuffisance rénale, aux causes endocriniennes, et d'origine inflammatoire (avant apparition de l'hypochromie), le myélogramme est nécessaire. Il montre :

- Une moelle pauvre : la biopsie médullaire est alors indispensable
 - aplasie ou myélofibrose (Le RDW est normal dans les aplasies, élevé dans les myélofibroses)
 - érythroblastopénie
 - congénitale (de Blackfan Diamond)
 - ou acquise
- Une moelle très riche avec
 - des signes de dysérythropoiïèse
 - carences vitaminiques (Vitamine B12, folates)
 - syndrome myélodysplasique
 - ou infiltrée par des cellules anormales (leucémie lymphoïde chronique, myélome, lymphome carcinome, sarcome...)

2.4.3. Les anémies normochromes et macrocytaires :

Elle est habituellement non régénérative. En dehors de l'intoxication éthylique et de l'hypothyroïdie, le myélogramme est nécessaire. Il montrera :

- Soit des signes de mégalo-blastose devant faire rechercher une carence vitaminique. Le RDW est élevé, avant même l'apparition de la macrocytose
- Soit des signes de dysmyélopoiïèse, voire un envahissement médullaire
- Soit une aplasie que confirmera la biopsie médullaire.

2.4.4. Les cas difficiles :

a. Plusieurs causes d'anémies peuvent être associées :

- Carence en fer et folates :
 - femmes enceintes, saignement chez un éthylique, malabsorption digestive.
 - L'anémie est hypochrome ou normochrome, normocytaire, non régénérative. Le RDW est élevé. La correction d'un déficit fait extérioriser l'autre.
- Carence en fer chez un thalassémique.
 - L'anémie est normochrome, microcytaire.
 - Le RDW est augmenté mais devient normal après correction de la carence en fer alors que la microcytose persiste.
- Anémie inflammatoire associée à une hémorragie distillante, à une dénutrition, à un déficit en folates.
 - L'anémie est hypochrome normocytaire.
 - Le RDW, normal dans l'anémie inflammatoire est élevé lorsqu'il existe une cause d'anémie surajoutée.

b. L'anémie est déjà traitée :

Elle est normochrome, normocytaire, régénérative dans les cas suivants :

- Anémie par saignement chronique recevant un traitement martial.
- Anémie par carence en vitamine B12 ou en folates en cours de traitement décapité par un traitement antérieur intempestif.

3. CONCLUSION :

Il est important de se rappeler que l'anémie n'est en aucun cas un diagnostic mais un symptôme imposant une recherche étiologique qui doit obéir à une démarche rigoureuse où le contexte, l'interrogatoire et l'examen clinique doivent guider les explorations biologiques.

Les schémas 1 et 2 « algorithmes diagnostiques des anémies » sont importants pour tout médecin même s'il n'est spécialiste pour la conduite diagnostique d'une anémie +++.

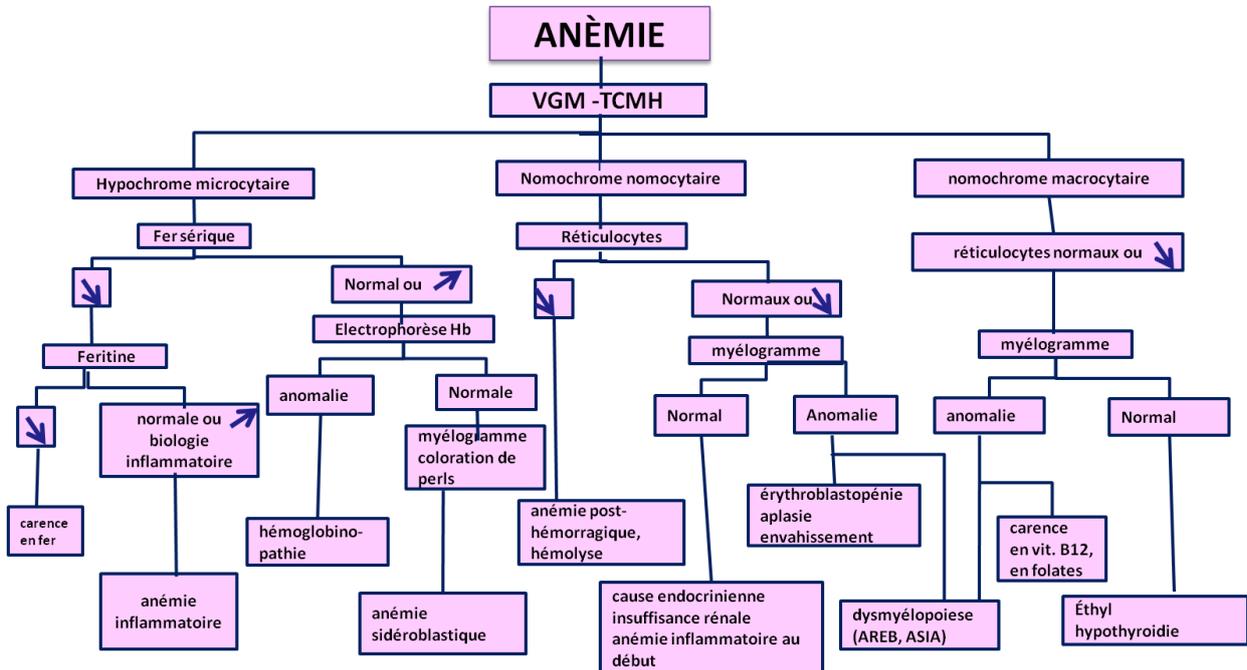


Schéma 1 : Démarche diagnostique d'une anémie

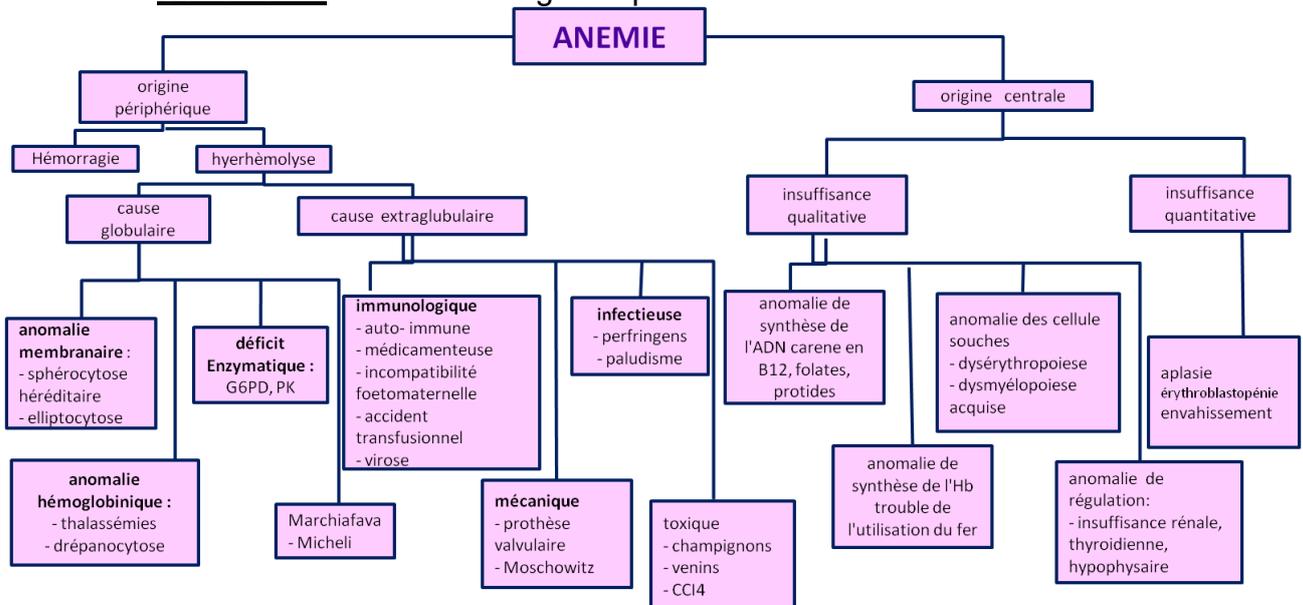


Schéma 2 : Classification des anémies

TESTS D'EVALUATION

CAS CLINIQUE

Mme M âgée de 32 ans est jeune maman allaitante. Elle consulte pour : asthénie, palpitations et essoufflement. L'examen trouve une pâleur cutanéomuqueuse. Les résultats de la numération formule sanguine sont les suivants : Globules rouges = 4 605 000/ μ L, Hémoglobine = 8,2 g/dL, CCHM = 30 g/dL, TCMH = 24 pg, VGM = 77 fl, Globules blancs = 8 100/ μ L et plaquettes = 620 000/ μ L.

1/ Indiquez les anomalies retrouvées sur l'hémogramme.

Anémie hypochrome microcytaire avec thrombocytose.

2/ Indiquer l'étiologie la plus probable de cette anémie.

Carence martiale

3/ Indiquer, à partir de l'énoncé, les éléments anamnestiques et cliniques en faveur de cette étiologie.

Mère allaitante, anémie microcytaire.

5/ Indiquer si la demande de réticulocytes est nécessaire au stade de diagnostic.

Non, car l'anémie ferriprive est non régénérative.

REPONSES :

1/ *Anémie hypochrome microcytaire avec thrombocytose.*

2/ *Carence martiale*

3/ *Mère allaitante, anémie microcytaire.*

5/ *Non, car l'anémie ferriprive est non régénérative.*

EXPLORATION DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	118
1. Introduction.....	119
2. Le temps de saignement (TS).....	119
3. Le temps d'occlusion : Méthode in-vitro (PFA-100®)	119
4. La numération plaquettaire et le frottis sanguin	119
5. L'agrégation plaquettaire	120
6. La cytométrie en flux	120
7. Dosage du facteur Von Willebrand	120
8. Le fibrinogène.....	120
9. La durée de vie des plaquettes.....	121
10. Tests explorant le vaisseau	121
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	123

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Définir le temps de saignement
- 2- Préciser les limites du temps de saignement
- 3- Expliquer le principe de la mesure du temps d'occlusion
- 4- Connaître le principe des tests explorant les plaquettes sanguines

1. Introduction

L'exploration de l'hémostase primaire comporte un ensemble d'analyses biologiques visant à évaluer la fonction et/ou le taux des différents intervenants dans cette étape de l'hémostase, soit de façon globale (tests globaux) soit de façon spécifique. En pratique, ces analyses sont demandées dans de nombreuses circonstances : syndrome hémorragique cutanéomuqueux, surveillance des traitements par antiagrégants plaquettaires...

On distingue 2 types de tests :

- Des tests de dépistage : simples et peu coûteux, ils sont nécessaires et doivent être réalisés quand les antécédents personnels ou familiaux sont évocateurs d'une maladie hémorragique. Néanmoins, ils ne sont pas suffisants pour la confirmation du diagnostic.
- Tests spécifiques : permettent d'explorer spécifiquement les plaquettes ou le facteur von Willebrand.

2. Le temps de saignement (TS)

C'est un test global explorant l'hémostase primaire *in vivo*. C'est le temps nécessaire à l'arrêt du saignement après une incision cutanée normalisée (d'une profondeur et d'une longueur déterminées).

Ce test *in vivo*, réalisé à l'avant-bras par la méthode d'Ivy, n'est ni reproductible, ni spécifique, ni sensible, et n'a pas de valeur prédictive du risque hémorragique : un TS normal ne permet pas d'exclure le diagnostic de maladie de Willebrand ou d'une thrombopathie. Il est abandonné et remplacé par la mesure du temps d'occlusion (TO) qui se fait *in vitro* sur un automate : PFA-100.

3. Le temps d'occlusion : Méthode *in-vitro* (PFA-100®)

C'est un test de dépistage. Le TO est mesuré par l'automate PFA-100® (*platelet function analyser*, Siemens) qui permet une analyse simplifiée, rapide et globale de l'hémostase primaire sur sang total citaté. Le test consiste à mesurer le temps nécessaire pour l'occlusion d'un orifice d'une membrane recouverte de collagène associé à des activateurs plaquettaires : l'épinéphrine ou l'adénosine diphosphate (ADP).

Cet automate simule la formation du caillot hémostatique dans des conditions de forces de cisaillement élevées comme celles rencontrées dans la microcirculation suite à une brèche vasculaire. Il a une bonne sensibilité pour la détection de la maladie de Willebrand et des thrombopathies sévères.

Le test s'effectue sur sang total prélevé sur citrate de sodium à 3,2 %. Le délai entre le prélèvement et la réalisation du test ne doit pas excéder 4 heures, délai au cours duquel l'échantillon doit être maintenu à température ambiante sans le bouger pour éviter d'activer les plaquettes.

4. La numération plaquettaire et le frottis sanguin

Le prélèvement sanguin peut être fait soit par ponction veineuse au pli du coude sur tube plastique contenant un anticoagulant (EDTA), soit par piqûre au bout du doigt (le sang est recueilli par capillarité). Après lyse des hématies, la numération plaquettaire est faite soit de façon manuelle (sur cellule de Malassez en microscopie optique à contraste de phase) soit de façon automatique par des appareils automatiques. L'intervalle de référence du taux de plaquettes est compris entre 150 et 400 x10⁹/L. Les automates de numération peuvent être une source d'erreurs (pseudo-thrombopénie sur EDTA) et l'examen du frottis est un contrôle parfois indispensable.

5. L'agrégation plaquettaire

C'est un test qui explore l'agrégation des plaquettes in vitro après ajout d'un activateur plaquettaire au moyen d'un agrégomètre. Un plasma riche en plaquettes est préparé par centrifugation du sang total veineux recueilli sur citrate de sodium. Dans la méthode photométrique, l'agrégomètre doté d'une source lumineuse, transmet un faisceau de lumière directe à travers le tube de plasma riche en plaquettes, cette lumière influence après la transmission une cellule photoélectrique. Après ajout d'un agent inducteur de l'agrégation dans le tube (ADP, acide arachidonique, collagène, thrombine, etc), l'agrégation plaquettaire induite par cet agent entraîne un éclaircissement du milieu et une augmentation de la transmission optique qui se traduit (grâce à un enregistreur sur papier ou à un système informatique) par une courbe d'agrégation plaquettaire. La latence avec laquelle l'agrégation démarre, la vitesse et l'intensité d'agrégation peuvent être calculées.

6. La cytométrie en flux

Elle permet une analyse individuelle et à haut débit (jusqu'à plusieurs milliers d'évènements par secondes de cellules en suspension). Elle permet l'étude qualitative et quantitative des glycoprotéines plaquettaires membranaires (GP IIb IIIa, GP Ib IX V grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux).

7. Dosage du facteur Von Willebrand

Le diagnostic de MW repose sur le dosage du taux de VWF antigène, du taux fonctionnel de VWF et du FVIII.

* **Dosage du facteur Willebrand antigène (VWF:Ag)** : Le dosage du VWF:Ag quantifie la protéine en circulation, qu'elle soit fonctionnelle ou non, sans détecter les anomalies qualitatives du VWF, et doit donc toujours être couplé à un test fonctionnel. L'analyse du rapport entre eux doit permettre de distinguer les déficits quantitatifs et qualitatifs.

* **Dosage de l'activité du facteur Willebrand (VWF:Act)** Différentes méthodes permettent d'évaluer l'activité du VWF (VWF:Act) : VWF:RCo, VWF:GPIbM, VWF:GPIbR.

Le dosage du VWF cofacteur de la ristocétine (VWF:RCo) mesure la capacité du VWF à se lier à des plaquettes fixées en présence d'un glycopeptide appelé ristocétine. La liaison du VWF aux plaquettes en présence de ristocétine requiert la présence de multimères de haut PM et un site de liaison du VWF à la GPIb intact.

* **Dosage du taux du facteur VIII de la coagulation (FVIII:C)**,

* **Étude des rapports VWF:Act/VWF:Ag, et FVIII/VWF:Ag** : Elle permet classiquement de distinguer une anomalie qualitative d'une anomalie quantitative.

* **Autres tests de deuxième niveau pour le diagnostic de MW :**

- test d'Agrégation (ou agglutination) plaquettaire induite à la ristocétine (ristocetin-induced platelet aggregation [RIPA]).
- Mesure de la capacité du facteur Willebrand à se lier au collagène (VWF:CB).
- Étude de la répartition des multimères du facteur Willebrand.
- Étude de la capacité du facteur Willebrand à se lier au facteur VIII (VWF:FVIIIIB).
- Anticorps antifacteur Willebrand.
- Analyse moléculaire du gène du facteur Willebrand.

8. Le fibrinogène

Les différentes activités biologiques seront envisagées dans le chapitre "Coagulation".

9. La durée de vie des plaquettes

L'étude de la durée de vie des plaquettes dans la circulation peut être réalisée grâce à une technique isotopique. Les plaquettes sont marquées in vitro avec un traceur isotopique (^{51}Cr ou ^{111}In) puis réinjectées aux malades. Des prélèvements sanguins sont réalisés à différents temps pendant quelques jours. La radioactivité est alors comptée dans ces prélèvements. La disparition progressive de cette radioactivité permet d'établir une courbe qui donnera le temps de 1/2 vie plaquettaire qui est normalement de 4 à 5 jours. En outre, par comptage externe scintigraphique grâce à une gamma caméra, on peut repérer les sites d'accumulation de la radioactivité qui renseignent sur les sites de séquestration ou d'accumulation des plaquettes marquées.

10. Tests explorant le vaisseau

En investigation clinique de routine, la qualité des fonctions du vaisseau est mal explorée. Peu de tests existent. Il faut noter que l'étude du temps de saignement et la mesure de la résistance capillaire sont les seules méthodes qui permettent d'apprécier le vaisseau. Mais ces tests explorent l'hémostase primaire globalement. La responsabilité du vaisseau ne sera retenue que si les autres paramètres sont normaux.

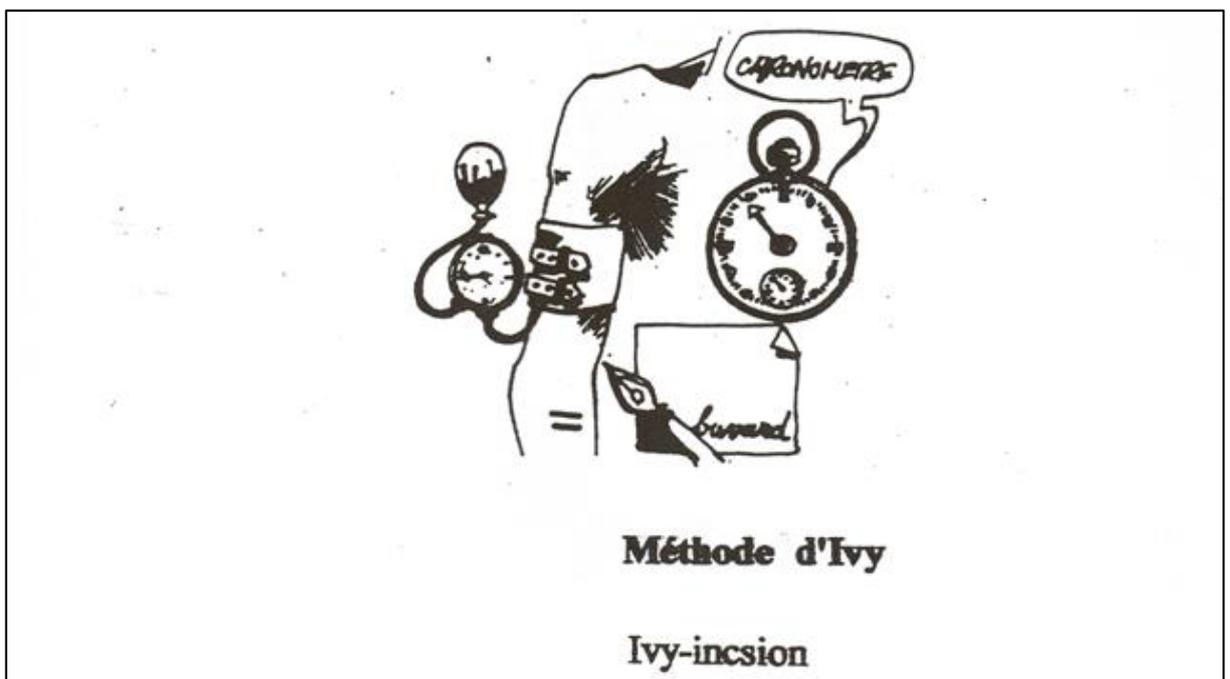


Figure 4 : Temps de saignement

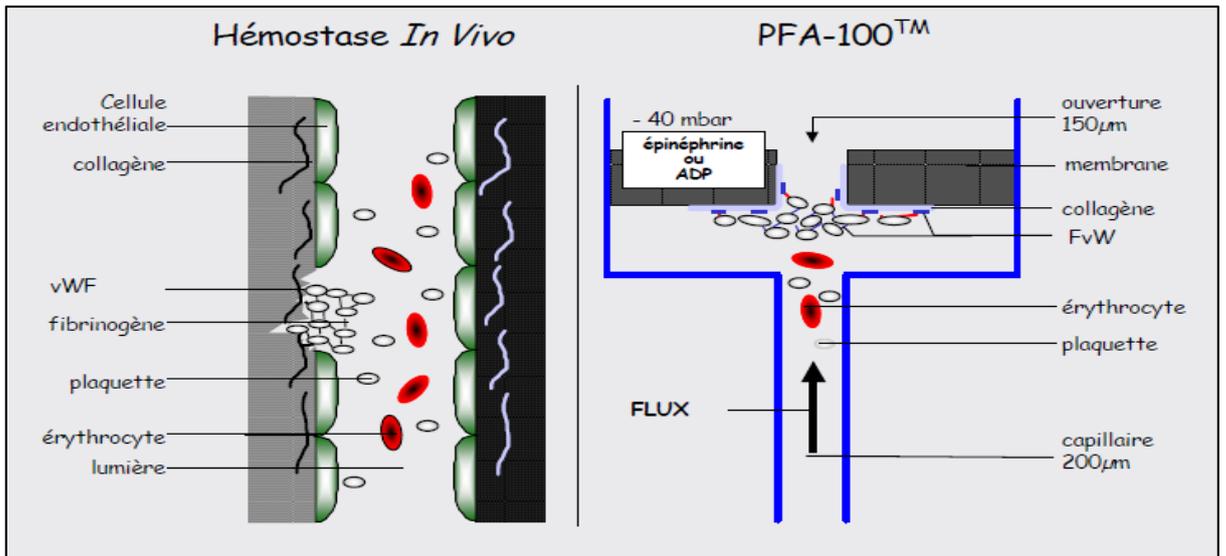


Figure 5 : Temps d'occlusion

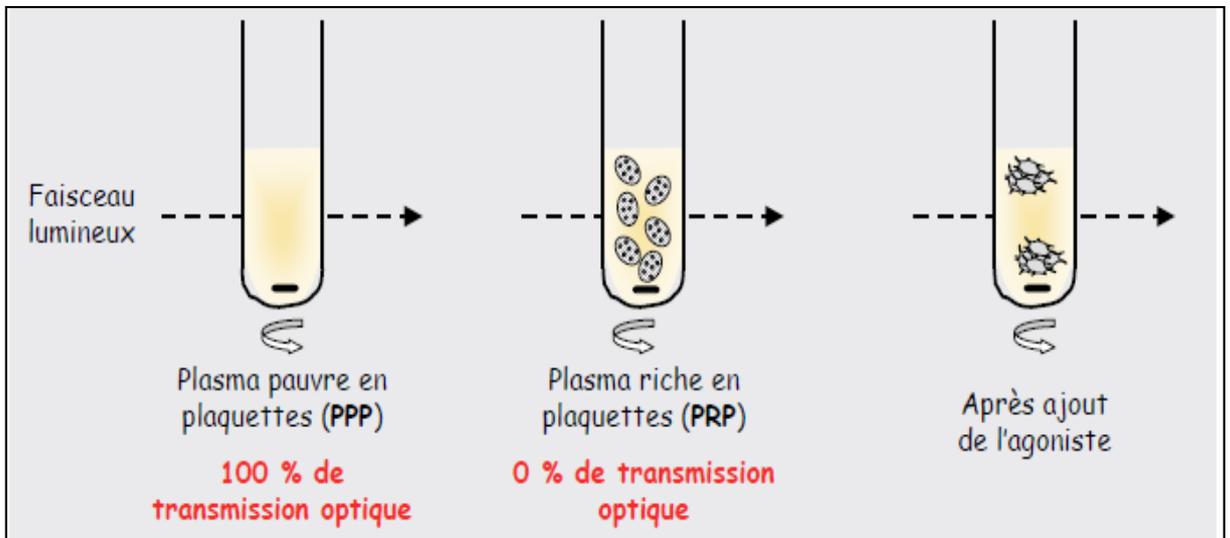


Figure 6 : Test d'agrégation plaquettaire

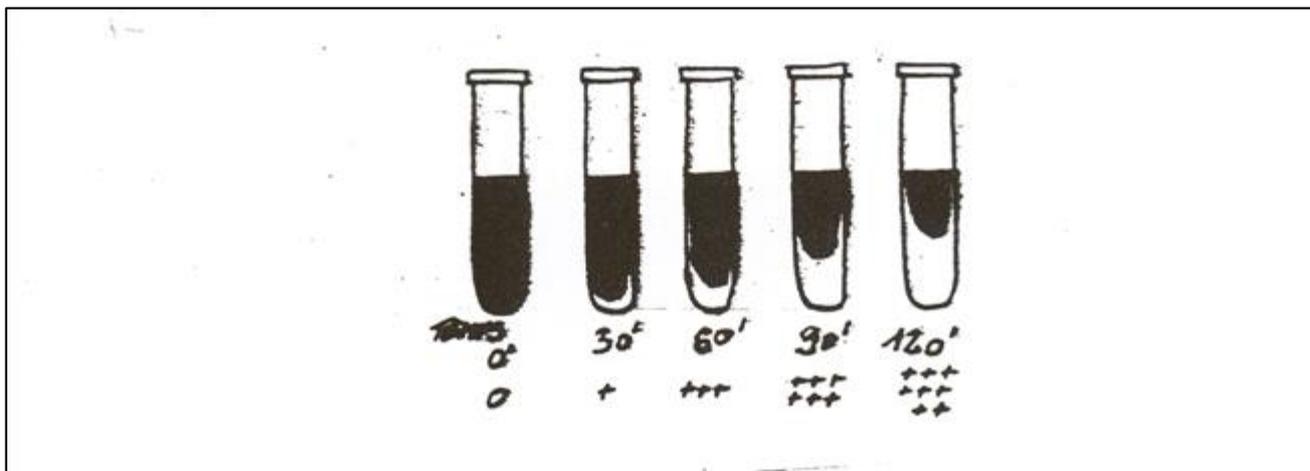


Figure 7: Rétraction du caillot

TESTS D'AUTOEVALUATION

QCM

- 1- Le test d'agrégation plaquettaire :**
 - A. explore l'hémostase primaire in vivo
 - B. se fait sur plasma riche en plaquettes
 - C. n'est pas modifié par la prise d'aspirine
 - D. utilise des agents agrégants plaquettaires
 - E. est modifié dans les thrombopathies
- 2- Le temps de d'occlusion est allongé dans :**
 - A. dans les thrombopénies sévères
 - B. dans les thrombopathies constitutionnelles
 - C. au cours du traitement par aspirine
 - D. au cours de la maladie de Willebrand
 - E. au cours de l'hémophilie A ou B
- 3- Les tests suivants sont anormaux lors d'une thrombopénie profonde :**
 - A. temps de céphaline activée
 - B. temps de Quick
 - C. temps d'occlusion
 - D. temps de thrombine
 - E. temps de lyse des euglobulines
- 4- L'acide acétyl-salicylique :**
 - A. Est un agent stimulant de l'activation plaquettaire
 - B. A une action inhibitrice irréversible sur les plaquettes
 - C. Agit en inhibant la sécrétion des plaquettes activées
 - D. Inhibe de façon réversible la cyclooxygénase plaquettaire
 - E. Entraîne un allongement du temps de Quick
- 5- La mesure du temps d'occlusion par le test PFA-100 :**
 - A. Est un test opérateur dépendant
 - B. Est réalisé in vivo au niveau de l'avant-bras
 - C. Tend à remplacer le temps de saignement
 - D. Se fait sur sang total prélevé sur anticoagulant
 - E. Explore la coagulation

Question à réponse ouverte courte (QROC)

- 1. Quel est le test permettant de quantifier les glycoprotéines membranaires des plaquettes ?**
- 2. En cas de thrombopénie sur la numération formule sanguine, quel est le test à faire pour confirmer l'authenticité de la thrombopénie ?**

Réponses :

QCM 1 : B D E

QCM 2 : A B C D

QCM 3 : C

QCM 4 : B

QCM 5 : C D

QROC :

- 1- La cytométrie de flux
- 2- Le frottis sanguin

EXPLORATION DE LA COAGULATION PLASMATIQUE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	124
1. INTRODUCTION	125
2. LES RECOMMANDATIONS CONCERNANT LE PRELEVEMENT ..	125
3. Le temps de Quick.....	125
3.1. Principe :.....	125
3.2. Causes d'allongement du temps de Quick (TP diminué).....	126
4. Le temps de céphaline avec activateur (TCA)	126
4.1. Principe.....	126
4.2. Causes d'allongement du TCA	127
5. Le temps de thrombine	127
5.1. Principe.....	127
5.2. Causes d'allongement du temps de thrombine	127
6. Temps de reptilase	127
7. Dosage du fibrinogène :.....	127
8. Dosage des facteurs de la coagulation	127
9. Dosage du facteur XIII de la coagulation :	127
10. Exploration des inhibiteurs.....	128
11. Surveillance Biologique du traitement par les Héparines (Héparine non fractionnée HNF et Héparines de bas poids moléculaires : HBPM).....	128
AUTOEVALUATIONS	129

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Enumérer les recommandations de prélèvement pour un bilan de coagulation
2. Définir le temps de Quick
3. Connaître les 3 modes d'expression du TQ
4. Enumérer les facteurs de la coagulation explorés par le TQ
5. Enumérer les causes de l'allongement du TQ
6. Définir le temps de céphaline avec activateur (TCA)
7. Interpréter un TCA
8. Enumérer les facteurs de la coagulation explorés par le TCA
9. Enumérer les causes de l'allongement du TCA
10. Définir le temps de thrombine (TT)
11. Interpréter un TT
12. Enumérer les facteurs de la coagulation explorés par le TT
13. Enumérer les causes de l'allongement du TT
14. Interpréter un bilan de coagulation
15. Préciser les tests explorant le facteur XIII de la coagulation
16. Préciser les tests explorant les inhibiteurs de la coagulation
17. Expliquer le principe et l'intérêt de l'INR
18. Préciser les tests de coagulation demandés pour la surveillance du traitement anticoagulant par les héparines

1. INTRODUCTION

L'exploration de la coagulation est indiquée en cas de :

- Syndrome hémorragique évoquant une anomalie de l'hémostase (acquise ou congénitale)
- Bilan pré-opératoire afin de dépister une anomalie constitutionnelle ou acquise, hémorragique ou prothrombotique
- Surveillance des thérapeutiques substitutives des déficits constitutionnels des facteurs de la coagulation
- Surveillance des traitements antithrombotiques (antivitamine K, Héparines)
- Bilan de thrombophilie
- Enquête familiale en cas d'une anomalie héréditaire de la coagulation.

L'exploration de la coagulation se fait en plusieurs étapes. Le point de départ repose sur des tests de première intention comportant : le temps de Quick qui explore la voie extrinsèque, le temps de céphaline avec activateur qui explore la voie intrinsèque, le dosage du fibrinogène ou le temps de thrombine. Des tests spécifiques seront demandés en 2^{ème} intention en fonction des résultats des tests de première intention.

Aucun test n'est capable d'explorer à lui seul toutes les étapes de la coagulation proprement dite.

2. LES RECOMMANDATIONS CONCERNANT LE PRELEVEMENT

La fiabilité des résultats des tests de coagulation dépend du respect des conditions pré analytiques de prélèvement et de transport au laboratoire.

A/ Prélèvement par ponction veineuse franche ; Garrot peu serré et maintenu peu de temps (rapidement desserré).

B/ Les premières gouttes de sang doivent être éliminées ou servir à d'autres examens car elles sont riches en thromboplastine cellulaire (facteur tissulaire) capable d'activer la coagulation in vitro.

C/ L'anticoagulant à utiliser est le citrate de Sodium (0,109 M).

D/ Le matériel de prélèvement doit être en verre siliconé ou en plastique pour éviter l'activation des facteurs contact.

E/ le sang prélevé doit être recueilli directement dans le tube citraté (jamais dans une seringue ou dans un tube sec).

F/ Remplir correctement le tube (9 volumes de sang pour 1 volume d'anticoagulant)

G/ Acheminement rapide au laboratoire (moins de 2 heures). Pour l'héparinothérapie, le délai de transport au laboratoire est moins d'une heure sauf utilisation de tubes spéciaux inhibant l'activation plaquettaire (tubes CTAD). Les échantillons sanguins ne doivent pas être stockés entre 2 et 8 °C puisqu'il peut se produire une activation des facteurs de la coagulation.

3. Le temps de Quick

3.1. Principe :

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes après adjonction de thromboplastine cellulaire et de Ca⁺⁺. Ce test reflète l'efficacité globale de la voie extrinsèque de la coagulation. Les résultats sont exprimés :

- en temps (secondes) par rapport à un pool de plasmas normaux (témoin) : Valeurs normales : 10 – 14 sec.

- en pourcentage : c'est la conversion du temps de Quick en taux de prothrombine (TP). Les valeurs normales du TP : entre 70 et 100 %.
- en INR (*international normalized ratio*) : pour la surveillance des traitements par AVK. Ce mode d'expression permet de limiter la variabilité inter-réactif des résultats et de définir des zones thérapeutiques (lesquelles varient en fonction de la pathologie sous-jacente mobilisant la prescription des AVK).

L'INR se calcule selon la formule suivante :

$$\text{INR} = \left[\frac{\text{TQ patient}}{\text{TQ témoin}} \right]^{\text{ISI}}$$

L'indice ISI (index de sensibilité international) est une constante calculée et fournie par le fabricant de réactif par comparaison avec la thromboplastine de référence internationale de l'organisation mondiale de la santé (OMS). L'ISI varie d'un lot de réactif à un autre.

3.2. Causes d'allongement du temps de Quick (TP diminué)

Le TQ explore la voie extrinsèque de la coagulation, c'est à dire les facteurs II, V, VII, X et le fibrinogène. Le TQ est donc **allongé** en cas de :

- Déficit congénital (quantitatif ou qualitatif) ou inhibiteur spécifique en l'un de ces facteurs
- Insuffisance de synthèse hépatocellulaire
- Traitement par les AVK (le TQ explore 3 des 4 facteurs vitamine K dépendants)

Ce test est normalement difficile à interpréter chez les malades en cours de traitement par l'héparine (les réactifs contiennent pour la plupart un inhibiteur de l'héparine qui les rendent plus ou moins insensibles à cette dernière, toute au moins aux concentrations habituellement rencontrées en thérapeutiques).

Il est important à noter que les réactifs sont peu sensibles aux anticoagulants circulants (lupus anticoagulant).

4. Le temps de céphaline avec activateur (TCA)

4.1. Principe

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes après adjonction d'un phospholipide (céphaline), d'un activateur des facteurs contacts et de Ca⁺⁺. Il explore la voie intrinsèque de la coagulation ; il explore tous les facteurs sauf le VII et le XIII. Les résultats doivent être interprétés par rapport au temps d'un plasma témoin. Les résultats sont exprimés en secondes par rapport au temps d'un pool des plasmas normaux (témoins).

Un TCA est considéré **normal** :

- **(TCA malade – TCA témoin) < 6 sec (adulte) et < 10 sec (enfant)**
Ou
- **Ratio (TCA malade / TCA témoin) < 1,2**

Le TCA est plus court dans certaines situations physiopathologiques qui s'accompagnent d'une augmentation du FVIII et du fibrinogène. Les raccourcissements du TCA sont ininterprétables (artéfact lié aux conditions pré-analytiques).

Le TCA est **allongé** (pathologique) si le rapport des TCA (M/T) est > à 1,2. Dans ce cas, le laboratoire réalise l'épreuve de correction : TCA (M+T) sur un mélange composé de parts égales du plasma malade et du plasma témoin. Le TCA (M+T) est

considéré allongé si le rapport (M+T)/T est supérieur à 1,2. On peut également calculer l'indice de Rosner (IR) selon la formule suivante :

$$IR = \frac{TCA_{(M+T)} - TCA_{(T)}}{TCA_{(M)}}$$

Il existe **un inhibiteur** si cet indice est supérieur à 15. Tout inhibiteur détecté doit être identifié. Il peut s'agir :

- D'héparine (traitement ou contamination lors du prélèvement)
- D'un anti-facteur (auto- ou allo-anticorps)
- Ou d'un lupus anticoagulant (anti-phospholipides)

4.2. Causes d'allongement du TCA

- Déficits quantitatifs ou qualitatifs et les inhibiteurs spécifiques des facteurs de la voie intrinsèque (sauf les facteurs VII et XIII).
- Traitement par héparine non fractionnée. A noter que les HBPM n'allongent pas ou peu le TCA, et ce en fonction de leur rapport anti-Xa/anti-IIa.
- Les lupus anticoagulants : la sensibilité est variable selon les réactifs (concentration en PL et nature de l'activateur)
- Anomalies importantes de la fibrinof formation (voir temps de thrombine).

5. Le temps de thrombine

5.1. Principe

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté après apport d'une quantité connue de thrombine. Il explore la dernière étape de la coagulation : **la fibrinof formation**. Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à un témoin. Le temps normal est d'environ 20 secondes.

5.2. Causes d'allongement du temps de thrombine

- Inhibiteurs de la fibrinof formation :
 - Héparine ;
 - antithrombine type produits de dégradation de la fibrine
- Hypofibrinogénémie < 0,50 g/L et afibrinogénémie congénitales ou acquises.
- Dysfibrinogénémie congénitale ou acquise.

6. Temps de reptilase

Dans ce test, la thrombine (sensible à l'héparine) est remplacée par une enzyme de venin de serpent : la reptilase qui est non sensible à l'héparine mais sensible à des inhibiteurs tels les produits de dégradation de la fibrine.

7. Dosage du fibrinogène :

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées : **méthode chronométrique de Clauss, méthode immunologique, dosage pondéral**

Valeur normale : 2 à 4 g/L.

Le taux du fibrinogène augmente avec l'âge, l'inflammation, la grossesse et le diabète.

8. Dosage des facteurs de la coagulation

Les techniques de dosage des facteurs de coagulation sont nombreuses et basées sur des principes différents : chronométrique (ou coagulométrique), colorimétriques et immunologiques.

9. Dosage du facteur XIII de la coagulation :

- **Test qualitatif: étude de la solubilité du caillot dans l'urée 5M ou l'acide monochloracétique 1 %.** Normalement, le caillot n'est pas soluble dans l'urée

ou l'acidemonochloracétique. Il se dissout en cas de déficit majeur (inférieur à 5 %) en facteur XIII.

- **Dosage quantitatif de l'activité transamidasique du FXIII.**
- **Dosage immunologique des sous-unités A et B par méthode de Laurell.**

10. Exploration des inhibiteurs

Cette exploration se fait dans le cadre d'un bilan d'exploration de thrombose. Elle comporte, outre le TP et le TCA, le dosage des inhibiteurs physiologiques de la coagulation (antithrombine, protéines C et S) et le dépistage des anticoagulants circulants (lupus anticoagulant). Il est à noter que le dosage des protéines C et S, les quelles sont vitamine-K dépendantes, doit se faire en dehors de tout traitement anticoagulant par les AVK.

11. Surveillance Biologique du traitement par les Héparines (Héparine non fractionnée HNF et Héparines de bas poids moléculaires : HBPM)

Les héparines sont des médicaments anti-thrombotiques utilisés à visée préventive ou curative. L'HNF se lie à l'antithrombine. Le complexe HNF-AT neutralise immédiatement la thrombine formée, ainsi que d'autres facteurs de la coagulation à l'exception du FVIIa. Compte tenu de la grande variabilité de réponse individuelle à l'HNF, un traitement par HNF à doses curatives doit être surveillé quotidiennement par **le TCA**. La dose d'héparine est ajustée afin d'obtenir un TCA entre 1,5 et 2,5 les valeurs témoins (TCA témoin).

Une surveillance de la **numération plaquettaire** doit être également effectuée avant le traitement puis 2 fois par semaine afin de détecter les thrombopénies induites par l'héparine.

Une autre méthode de surveillance est la **mesure de l'héparinémie**. Cette dernière consiste en la mesure de l'activité anti-Xa du plasma du patient ; la cible thérapeutique état 0,2 à 0,7 UI/mL. Le prélèvement sanguin pour la mesure de l'héparinémie doit être effectué :

- En cas de perfusion intraveineuse continue : au minimum 4 heures après l'instauration du traitement ou le changement de dose, puis à n'importe quel moment
- En cas de traitement par voie sous-cutanée : à la moitié du temps qui sépare deux injections

Les HBPM ont une forte activité anti-Xa et une activité anti-IIa plus faible. Par ailleurs, le traitement préventif et curatif par les HBPM, ne nécessite habituellement pas de surveillance de l'hémostase (excepté le taux de plaquettes) étant donné la faible variabilité interindividuelle. Les cas particuliers nécessitant une surveillance biologique sont : les poids extrêmes (obèse ou < 50 kg), insuffisance rénale légère à modérée (les HBPM sont contre-indiqués en cas d'insuffisance rénale sévère), risque hémorragique ou survenue de manifestations hémorragiques. Pour assurer cette surveillance, le seul test utilisable est le dosage de l'héparinémie par le **dosage de l'activité anti-Xa**. Le TCA ne sera allongé qu'en cas de traitement curatif : il est inutile car il ne prédit ni le risque hémorragique ni l'efficacité antithrombotique.

AUTOEVALUATIONS

QCM

1. Le TCA:

- A. Explore la voie extrinsèque de la coagulation
- B. Son allongement s'observe en cas d'anomalie ou de déficit de l'un des facteurs suivants : XII, XI, IX, VIII, VII
- C. Son allongement s'observe en cas d'anomalie ou de déficit de l'un des facteurs suivants : XII, XI, IX, VIII, X, V, II et le fibrinogène
- D. est allongé dans le déficit en F XIII
- E. Est allongé quand il dépasse 30 sec.

2. Le temps de Quick :

- A. est toujours allongé quand le TCA est allongé
- B. explore la voie extrinsèque de la coagulation
- C. est allongé en cas de déficit de l'un des facteurs suivants : II, V, VII, X et le fibrinogène
- D. est allongé en cas de déficit en FVIII
- E. est allongé en cas d'allongement du temps de thrombine.

3. Le temps de thrombine :

- A. apprécie la qualité et la quantité de thrombine
- B. dépend du taux et de la qualité de fibrinogène
- C. est allongé en cas de déficit en FXIII
- D. est allongé chaque fois que le temps de Quick est allongé
- E. est le temps de coagulation d'un plasma citraté en présence d'un excès de thrombine.

4. L'anticoagulant utilisé en hémostase est :

- A. L'EDTA
- B. L'héparine
- C. Le citrate de sodium
- D. Le CTAD
- E. L'oxalate de calcium

5. Le prélèvement sanguin pour exploration de la coagulation :

- A. Doit être réalisé obligatoirement chez un sujet à jeun
- B. Est réalisé dans un tube en verre non siliconé
- C. Doit être acheminé en moins de 2 heures au laboratoire
- D. Peut être réalisé sans garrot
- E. Se fait un niveau d'une veine du pli du coude

6. Le temps de reptilase :

- A. Explore la voie extrinsèque de la coagulation
- B. Est insensible à l'héparine non fractionnée
- C. Est insensible aux produits de dégradation de la fibrine
- D. Explore la fibrinofomation
- E. Est utilisé en pratique courante

7. Une hypofibrinogénémie sévère (<0,5 g/l) se manifeste par :

- A. Un allongement du TCA et du TQ avec un TT normal
- B. Un allongement isolé du TT
- C. Un allongement du temps de saignement
- D. Un allongement du TQ, TCA et du TT
- E. Un allongement isolé du TQ

8. Le déficit sévère en FXIII se manifeste par :

- A. Un TCA allongé
- B. Un TQ allongé
- C. Un TT allongé
- D. Une augmentation de la solubilité du caillot dans l'urée 5M
- E. Un allongement du temps de saignement

9. L'insuffisance hépatocellulaire sévère se manifeste par :

- A. Un allongement du TCA et du TQ
- B. Une hypofibrinogénémie
- C. Un allongement isolé du TT
- D. Une diminution de l'activité de la plupart des facteurs de la coagulation
- E. Une diminution isolée du FV

10. L'héparine non fractionnée :

- A. Allonge le TCA et le TQ
- B. Allonge le TCA et le TT
- C. Ne modifie pas le TQ à dose thérapeutique
- D. Allonge le temps de reptilase
- E. Entraîne une diminution du taux de fibrinogène

Question à développement court

1/ Expliquer le principe du test de mélange (test de correction) utilisé en cas d'un TCA allongé.

2/ Définir l'INR et préciser l'indication et l'intérêt de son utilisation.

Réponses :

QCM 1 : C

QCM 2 : B C E

QCM 3 : B

QCM 4 : C

QCM 5 : B C D E

QCM 6 : B D

QCM 7 : D

QCM 8 : D

QCM 9 : A B D

QCM 10 : B C

EXPLORATION DE LA FIBRINOLYSE

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	131
1. Introduction.....	132
2. Conditions de prélèvement :	132
3. Des tests globaux :	132
3.1. Temps de lyse du caillot de sang total ou du caillot plasmatique :	132
3.2. Temps de fearnley ou temps de lyse du sang dilué :	132
3.3. Temps de lyse des euglobulines plasmatiques : le test de Von Kaulla : 132	
4. Des tests analytiques ou spécifiques :	133
5. Des tests indirects :	133
TESTS D'AUTOEVALUATION.....	134

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

- 1- Citer les 3 situations nécessitant une exploration de la fibrinolyse
- 2- Enumérer les conditions de prélèvement pour l'exploration de la fibrinolyse
- 3- Expliquer le principe des tests de globaux en précisant leurs limites
- 4- Expliquer l'intérêt du dosage des D-dimères

1. Introduction

L'exploration du système fibrinolytique est le parent pauvre de l'hémostase en raison de l'absence d'un test simple et automatisé de routine évaluant l'activité fibrinolytique et de la rare nécessité en clinique de cette exploration.

L'exploration repose sur deux types de tests : les tests globaux et les tests analytiques.

Du point de vue pratique, l'exploration de la fibrinolyse peut être utile dans 3 situations de la pathologie en hémostase :

- surveillance des traitements thrombolytiques,
- hypofibrinolyse et thrombophilie,
- hyperfibrinolyse responsable d'un syndrome hémorragique.

Dans tous les cas, il faut respecter rigoureusement les conditions de prélèvement.

2. Conditions de prélèvement :

Le recueil de sang doit s'effectuer à l'aide d'aiguille à flux libre :

- Le matin entre 8 et 10 heures car les paramètres de la fibrinolyse connaissent des variations circadiennes.
- Sans garrot, sujet au repos (20 minutes) à jeun
- A distance d'une prise d'alcool (24 h minimum), de caféine, le tabac, l'exercice physique et d'un épisode infectieux. Effet, le stress, l'exercice physique ou la prise d'excitant risque d'induire une libération de t-PA par l'endothélium vasculaire.

Le prélèvement se fait sur citrate de Ca⁺⁺ qui peut être additionné de :

- Un agent antiplaquettaire : CTAD pour limiter la libération de PAI-1 plaquettaire
- Un agent antifibrinolytique (exemple : aprotinine)
- Acide acétique : le pH acide est recommandé pour stopper l'interaction in vitro d'activateurs et d'inhibiteurs (t-PA et PAI-I)

Le prélèvement doit être maintenu à **+4°C** même lors de la centrifugation.

3. Des tests globaux :

3.1. Temps de lyse du caillot de sang total ou du caillot plasmatique :

Il permet de mettre en évidence une lyse accélérée du caillot. Il est normalement supérieur à 72 heures. Dans les hyperfibrinolyse primitives et dans les CIVD sévères, la lyse est plus rapide (quelques heures).

3.2. Temps de fearnley ou temps de lyse du sang dilué :

C'est un test de lyse qui se fait sur sang total dilué. La dilution du sang sensibilise le test en réduisant l'activité des inhibiteurs. Le temps de lyse chez un sujet normal est > 6 heures (6-12 h).

3.3. Temps de lyse des euglobulines plasmatiques : le test de Von

Kaulla :

C'est une méthode sensibilisée. La précipitation **des euglobulines plasmatiques** par dilution et acidification du plasma entraîne l'élimination de la majorité des inhibiteurs de la lyse. Ceci permet d'obtenir des temps de lyse plus courts et de réduire les délais de réponse. Dans le précipité, on trouve essentiellement : le plasminogène, le t-PA, une partie du PAI-1, le fibrinogène et les facteurs de la coagulation.

Chez un sujet normal, le temps de dissolution du caillot des euglobulines **est > 3 heures**.

Un raccourcissement significatif du temps de lyse se voit dans les hyperfibrinolyse.

4. Des tests analytiques ou spécifiques :

- **Dosage du plasminogène** : dosage fonctionnel, dosage chromogénique
- **Dosage du t-PA** : dosage immunologique, dosage fonctionnel
- **Dosage du PAI** : dosage immunologique, dosage fonctionnel
- **Dosage des complexes t-PA/PAI**
- **Dosage des antiplasmines**
- **Dosage des complexes solubles.** Association de monomères de fibrine avec du fibrinogène, des produits de dégradation du fibrinogène et/ou de la fibrine ou les deux. Les monomères de fibrine sont un témoin de la génération de thrombine. Leur recherche est indiquée dans le diagnostic biologique et le suivi des coagulopathies de consommation (Coagulation intravasculaire disséminée) Permet de distinguer la fibrinogénolyse primitive (sans complexes solubles) des fibrinogénolyses secondaires à une CIVD (taux élevé de complexes solubles)

5. Des tests indirects :

Ils permettent :

- **D'étudier le retentissement de la fibrinolyse exagérée et l'hyperconsommation des facteurs de la coagulation** qui se manifeste par l'allongement des temps de coagulation globaux (TQ, TCA et TT) ainsi que le déficit plus ou moins profond en facteurs de la coagulation (fibrinogène, V, VIII, II surtout)
- **Le dosage des produits de dégradation du fibrinogène et des D-dimères (spécifiques de la fibrine).** Ils constituent le reflet direct de l'activation de la coagulation favorisant, dans une réaction secondaire, l'activation du système fibrinolytique. Les D-Dimères sont les marqueurs biologiques plus spécifiques que les produits de dégradation du fibrinogène. Leur taux augmente dans de nombreuses circonstances physiologiques et pathologies : grossesse, post-opératoire, post-traumatique, thrombose veineuse profonde, embolie pulmonaire, infection, inflammation, cancer, insuffisance rénale, fibrillation auriculaire...

Les D-Dimères ont une place importante dans la stratégie diagnostique de la thrombose veineuse profonde (TVP) et de l'embolie pulmonaire (EP).

Les D-Dimères sont dosés à l'aide d'anticorps monoclonaux soit par agglutination (méthode LATEX), soit par méthode ELISA. La 1ère méthode est moins sensible que l'ELISA. Par contre, la sensibilité et la valeur prédictive négative du dosage des D-Dimères par méthode ELISA sont excellentes (autour de 97 %). Un taux normal (en général < 500 ng/ml) de D-Dimères associé à une probabilité clinique faible, permet d'exclure le diagnostic de TVP et d'EP. Lorsque la probabilité est forte, il convient de poursuivre les investigations.

Sa spécificité est en revanche faible (< 50 %) et ainsi un taux de D-Dimères > 500 ng/ml n'a pas de valeur diagnostique pour l'EP ou la TVP. L'interprétation des résultats peut être difficile surtout en période postopératoire car la résorption des hématomes chirurgicaux est responsable d'une élévation importante des valeurs.

TESTS D'AUTOEVALUATION

1/ Le test de Von KAULLA :

- A. mesure le temps de lyse d'un caillot de sang total dilué
- B. est le temps de lyse du caillot des euglobulines
- C. le temps de lyse normal par ce test est inférieur à 3 heures
- D. n'est pas modifié en cas de traitement thrombolytique
- E. explore la fibrinof formation et la fibrinolyse

2/ Le prélèvement sanguin pour exploration de la fibrinolyse :

- A. Doit être réalisé obligatoirement chez un sujet à jeun
- B. Est réalisé dans un tube en verre non siliconé
- C. Doit être acheminé en moins de 2 heures au laboratoire
- D. Peut être réalisé sans garrot
- E. Doit être réalisé à distance d'une prise de caféine

3/ Les D-dimères:

- A. Sont des marqueurs d'activation primitive de la fibrinolyse
- B. sont les produits de dégradation du fibrinogène
- C. sont augmentés dans certaines circonstances physiologiques telles que la grossesse et en post-opératoire
- D. possèdent une valeur prédictive négative pour le diagnostic des thromboses veineuses profondes
- E. sont spécifiquement augmentés dans l'embolie pulmonaire

QROC

Citer deux circonstances s'accompagnant d'une augmentation du taux des D-dimères.

QUESTION A DEVELOPPEMENT COURT

Expliquer brièvement l'intérêt du dosage des D-dimères dans la stratégie diagnostique de la TVP et de l'EP.

Réponses :

QCM

QCM 1 : B, C

QCM 2 : A, B, E

QCM 3 : C, D

QROC

2 parmi : grossesse, post-opératoire, post-traumatique, infection, inflammation, cancer, insuffisance rénale, fibrillation auriculaire

QUESTION A DEVELOPPEMENT COURT

Les D-Dimères ont une place importante dans la stratégie diagnostique de la thrombose veineuse profonde (TVP) et de l'embolie pulmonaire (EP). Un taux normal (en général < 500 ng/ml) de D-Dimères associé à une probabilité clinique faible, permet d'exclure le diagnostic de TVP et d'EP. Lorsque la probabilité est forte, il convient de poursuivre les investigations.

LES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES

SOMMAIRE

OBJECTIFS EDUCATIONNELS	135
1. Introduction.....	137
2. Diagnostic positif et différentiel des anémies hémolytiques acquises 137	
2.1. Diagnostic positif.....	137
2.2. Diagnostic différentiel.....	137
3. Diagnostic étiologique.....	137
3.1. Les anémies hémolytiques acquises immunologiques (tda +).....	138
3.2. Les anémies hémolytiques acquises non immunologiques (tda -).....	138
4. Les anémies hémolytiques auto-immunes (ahai)	138
2.2. Définition.....	138
2.3. Physiopathologie	138
2.4. Les ahai à auto-anticorps froids	141
2.5. Diagnostic différentiel des ahai	142
2.6. Tableau récapitulatif des ahai (tableau 1)	142
5. Les autres anémies hémolytiques immunologiques.....	142
5.1. L'anémie hémolytique immuno-allergique	142
6. Le traitement des anémies hémolytiques auto-immunes.....	143
6.1. Le traitement symptomatique	143
6.2. Le traitement étiologique.....	143
7. Les anémies hémolytiques par fragmentation.....	144
7.1. Le purpura thrombopénique thrombotique (ptt) ou syndrome de moschowitz.....	144
7.2. Le syndrome hémolytique et urémique ou shu.....	144
7.3. Origine cardiaque	144
8. Anémies hémolytiques en contexte infectieux et chimique	145
8.1. Contexte infectieux	145
8.2. Les anémies hémolytiques toxiques/chimiques.....	145
9. L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (hpn) = maladie de maladie de marchiafava-micheli	145
10. Algorithme diagnostique des anémies hémolytiques acquises.....	146
TESTS AUTOEVALUATION	147

OBJECTIFS EDUCATIONNELS

1. Enumérer les étiologies des anémies hémolytiques acquises
2. Etablir la démarche diagnostique étiologique devant une anémie avec hémolyse d'apparition récente
3. Préciser brièvement les caractéristiques (mécanisme, diagnostic, évolution) des différentes anémies hémolytiques acquises
4. Préciser les différents types des anémies hémolytiques auto-immunes et leurs caractéristiques

1. INTRODUCTION

Les anémies hémolytiques acquises (AHA) sont caractérisées par leur hétérogénéité étiologique. L'installation récente de signes d'hémolyse et d'anémie doit d'emblée conduire à une orientation diagnostique via :

- Un interrogatoire complet : éliminer une urgence et dans un but étiologique
- Deux examens biologiques :
 - o Un test direct à l'antiglobuline (TDA) : oriente vers une étiologie immunologique
 - o Une recherche des schizocytes : élimine une hémolyse mécanique dont le traitement constitue une urgence

2. DIAGNOSTIC POSITIF ET DIFFERENTIEL DES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES

2.1. DIAGNOSTIC POSITIF

Si les contextes cliniques sont divers, le tableau biologique est commun. Il comprend :

- une hémolyse non spécifique +/- marquée
- Une anémie normo ou macrocytaire
- +/- Bilirubine libre augmentée
- +/- Haptoglobine diminuée

La durée de vie des hématies au chrome 51 est diminuée mais de pratique non courante. Elle permet de confirmer aussi bien l'hémolyse que son siège.

2.2. DIAGNOSTIC DIFFERENCIEL

Comprend les étiologies suivantes à TDA négatif :

a. LES ANEMIES SANS DESTRUCTION PERIPHERIQUE

Comprennent les pathologies qui associent :

- anémie + hyper-réticulocytose. Il s'agit d' :
 - Hémorragies
 - Correction d'une carence en fer ou en vitamine B12
 - Récupération d'une insuffisance médullaire
- anémie + ictère : il s'agit de :
 - l'érythropoïèse inefficace avec hémolyse intra-médullaire (carence vitaminiques)

b. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES CONSTITUTIONNELLES

Comprennent les :

- Hémoglobinopathies
- Anomalies constitutionnelles des globules rouges

3. DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

→ **Hétérogénéité étiologique**

→ **Orientation diagnostique** : simple

- Contexte clinique : décisif
 - Exp : MHNN, Accident d'allo-immunisation
 - Prise d'un médicament, exposition à un toxique
 - Contexte infectieux
- Examens biologiques : deux sont importants :
 - Test direct à l'antiglobuline (TDA) → oriente vers étiologie immunologique
 - Recherche de schizocytes → élimine une anémie par fragmentation des hématies indiquant une hémolyse mécanique (urgence thérapeutique +++)

3.1. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES IMMUNOLOGIQUES (TDA +)

Sont les plus fréquentes des AHA, essentiellement les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI).

Comprennent les :

- AHAI : anémies hémolytiques auto-immunes
- Anémie hémolytiques allo-immunes :
 - Maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)
 - Post-transfusionnelle
- AHIA : anémie hémolytique immuno-allergique
 - Secondaires à une prise médicamenteuse

3.2. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES NON IMMUNOLOGIQUES (TDA -)

Comprennent-les :

- MAT : les microangiopathies thrombotiques. Ce sont des anémies hémolytiques mécaniques par fragmentation et comprennent notamment :
 - Purpura thrombotique thrombocytopénique ou syndrome de Moskowitz
 - Syndrome hémolytique et urémique (SHU)
- Les anémies hémolytiques en contexte infectieux ou toxique
- Les anémies hémolytiques chimiques
- L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) encore appelée Maladie de Marchiafava Michelli

CHAPITRE I : LES ANÉMIES HÉMOLYTIQUES IMMUNOLOGIQUES

4. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES AUTO-IMMUNES (AHAI)

2.2. DEFINITION

Ce sont des anémies hémolytiques **extracorporelles** acquises, liées à la présence **d'auto-anticorps** érythrocytaires +/- plasmatiques dirigés contre ses propres antigènes érythrocytaires. Leur fréquence est estimée entre 1/38 k à 1/100 k habitants.

Les auto-anticorps engendrent une hyperhémolyse par destruction exagérée des hématies dont la durée de vie s'en trouve raccourcie.

2.3. PHYSIOPATHOLOGIE

Les anémies sont classées selon l'optimum thermique des autoanticorps :

- **AHAI à auto-anticorps chauds** : les autoanticorps sont des d'IgG -(rarement des IgA ou IgM), polyclonales, actives à 37 °C, non agglutinantes, ne fixent pas le complément et de spécificité anti-Rhésus- à l'origine d'une hémolyse **extravasculaire**, essentiellement **splénique**.
- **AHAI à auto-anticorps froids** : les autoanticorps sont des d'IgM ou IgG biphasiques ou IgM monoclonales de la maladie des agglutinines froides monoclonales, actifs à +4°C, de spécificité anti-I/i et fixant et activant le complément jusqu'au complexe d'attaque membranaire (CAM) à l'origine d'une hémolyse **intravasculaire**.
- Les autoanticorps chauds qui fixent le complément sont rares et aboutissent à une hémolyse sévère.
- Le complément peut être fixé sans aboutir au CAM, la destruction est alors splénique

- Les hémolysines biphasiques de Donath et Landsteiner sont des IgG anti-P de titre 8 à 64 qui se fixent à + 4°C et activent le complément à 37°C (hémolyse), activés suite à une exposition au froid (<15°C), appelés hémolysine biphasique, de spécificité anti-P. Se fixe à froid et fixe le complément

Mécanisme de l'hémolyse :

- Les hématies opsonines par des anticorps sont phagocytées par les macrophages splénique et hépatiques donnant une hémolyse intra-tissulaire (=extravasculaire). Il en est de même lorsque le complément est activé jusqu'à C3. La phagocytose membranaire partielle (zone d'insertion de l'anticorps) abouti à des hématies sphérocytaires caractéristiques.
- Lorsque le complément est activé en totalité jusqu'à C9 (CAM), l'hémolyse est intravasculaire, plus rare mais plus grave.
- Il existe aussi une hémolyse par ADCC (cellules NK) et/ou par les lymphocytes

4.1. LES AHAI A AUTO-ANTICORPS CHAUDS

a. Clinique

Les anémies hémolytiques à autoanticorps chauds constituent la forme la plus fréquente des AHAI (80 % des cas). Elles peuvent se manifester sous forme :

- aigue avec hémolyse intravasculaire
- chronique avec hémolyse extravasculaire
- intermédiaires
- asymptomatiques de découverte fortuite (hémolyse compensée)
- chronique avec poussées aiguës

b. Biologie

➤ **L'hémogramme :**

- Il montre une anémie **normochrome normocytaire ou macrocytaire**.
- Au frottis de sang : anisocytose, poikilocytose, **sphérocytose** (par phagocytose d'une partie de la membrane globulaire) +/- érythroblastose circulante.
- L'hyper réticulocytose est soit :
 - > 150.10⁹/L
 - normale
 - modérée +/- myélémie discrète
- Les plaquettes sont normales

➤ **La biochimie :**

- Les explorations en biochimie montrent une **HEMOLYSE AIGUE INTRAVASCULAIRE** avec :
 - Une hémoglobulinémie plasmatique (observable sur un échantillon sanguin sédimenté ou centrifugé)
 - Une haptoglobine effondrée
 - Une hémoglobulinurie (différée, observée au sondage urinaire)
 - Une bilirubine non conjuguée augmentée
 - Une sidérémie augmentée
 - Des LDH augmentées
 - Une urobilinurie augmentée
 - Une hémosiérinurie (fer dans les urines)
 - Et un stercobilinogène fécal augmenté

➤ **Le test direct à l'antiglobuline (TDA)**

Le TDA est le test **diagnostic essentiel** de la nature auto-immune de l'anémie. Il met en évidence la **sensibilisation** de la surface des **hématies par les autoanticorps** +/- le complément. Il existe le TDA polyspécifique (à l'antiglobuline polyvalente, à la

fois anti-IgG et anti-complément ensemble) et le TDA spécifique (à l'anti-IgG, anti-C', anti-IgM, anti-IgA séparément). Le TDA est positif à :

- IgG + C' = 45 %
- IgG = 35 %
- C' = 10 %
- IgA + IgG = 5 %
- IgM + IgG + C' = 5 %
- Des faux négatifs peuvent exister lorsque les anticorps sont :
 - en nombre < seuil de détection (= 150 molécules / hématie)
 - de nature IgA (1%), non détectables par les TDA IgG + complément. C'est l'indication du TDA à l'IgA en cas de forte suspicion d'AHAI à TDA (-)
 - de nature IgM : qui s'éluent facilement ne laissant que le complément à la surface des hématies
- Des faux positifs sont rapportés chez :
 - Les patient alités dans ce cas les auto-Ac absent de l'éluat et du sérum

➤ **Les autres tests :**

- **Le Test Indirect à l'Antiglobuline (TIA) :** met en évidence :
 - auto-anticorps sériques en cas de fausse négativité du TDA
 - Exp : IgM s'éluent facilement de la surface des hématies
- **Le test de fixation-éluion** des anticorps, met en évidence :
 - auto-anticorps ainsi que leur spécificité
- **Le myélogramme** a peu d'intérêt dans le diagnostic +++. Il n'est pas indiqué en 1^{ère} intention. Lorsqu'il est pratiqué, il met en évidence
 - une moelle très riche avec hyperplasie érythroblastique > 40 %
 - parfois une mégalo blastose modérée
 - les autres lignées sont normales
- **Les examens isotypiques : le marquage au chrome 51** est rarement nécessaire au diagnostic, il est de pratique non courante et met en évidence :
 - Une diminution de la durée de vie des hématies
 - Le siège électif de l'hémolyse

c. Etiologies des AHAI à auto-anticorps chauds

- **Formes idiopathiques :** un suivi du patient est nécessaire à la recherche d'une maladie associée qui se révèle ultérieurement

- **Associées à maladie sous-jacente,** où l'AHAI est révélatrice ou qui la précède, à rechercher :

- Une hémopathie lymphoïde (LLC, Lymphome malin, maladie de Waldenström, maladie de Hodgkin, myélome)
- Une tumeur : **adénocarcinome digestif, K rein, ovaire**
- Maladies du collagène et autre affections dysimmunitaires : LES, PR, périarthrite noueuse, maladie de Sjögren, sclérodermie, hépatite chronique, colite, diabète, grossesse, Purpura Thrombopénique immunologique (PTI) (AHAI+PTI = syndrome d'Evans)
- Déficit immunitaire notamment de l'enfant
- Prise d'Aldomet (α méthyl-dopa) > 3 mois (<1 %) : peut aboutir à une AHAI authentique, le TDA + dans ≈ 25% des cas.

d. Pronostic des AHAI à auto-anticorps chauds

- Formes idiopathiques
 - Dépend du traitement, notamment complications infectieuses
 - L'hémolyse aigue peut engendrer une insuffisance rénale aigue, embolie pulmonaire

- Formes secondaires
 - Dépend de l'étiologie
- Syndrome d'Evans
 - Alterne poussées-rémissions
 - Réponse au traitement variable
- 2.4. LES AHAI A AUTO-ANTICORPS FROIDS**
- a. Biologie**
- Une auto-agglutination spontanée est visible sur l'échantillon de sang à froid (température < 30°C).
 - **Hémogramme** : montre
- Une fausse macrocytose :
 - Par agglutination de plusieurs hématies comptées comme une seule par l'automate
 - Donnant un VGM non cohérent (> valeurs normales maximales)
- Anomalies réversibles à 37 °C ou par remplacement saline
 - **TDA** : Positif de type complément ou complément + IgM.
- **Recherche des agglutinines froides** : Se fait à +4°C et est considérée (+) si > 1/32.
- b. LES FORMES DES AHAI A AUTO-ANTICORPS FROIDS**
- **La forme aigue transitoire infectieuse de l'enfant**
- 10-15 jours après une pneumonie à *Mycoplasma pneumoniae*
- début brutal avec hémolyse est intravasculaire sévère + ischémie des extrémités
- autres étiologies : oreillons, rougeole, varicelle, MNI, CMV
- Le TDA est de type complément
- Une hémolysine de titre > 512 de type IgM polyclonale anti-I (pneumonie atypique) ou anti-i (autres) est détectée dans le sérum
 - **La maladie chronique des agglutinines froides**
- la 2^{ème} plus fréquente des AHAI
- touche l'homme > 50 ans
- l'hémolyse est modérée avec poussées aigues déclenchées par l'exposition au froid associées à des troubles vasomoteurs des extrémités de type
 - Acrocyanose
 - Syndrome de Raynaud
 - Ischémie cutanée
- **Biologie** :
 - IgM anti-I, titre > 1 000
 - TDA de type C'
 - Electrophorèse : pic dans un 1/3 des cas
 - Immunoélectrophrèse : IgM monoclonale
- **Étiologies** :
 - 20 % : maladie de Waldenström
 - 10 % : lymphome
 - 70 % : idiotypique avec des nodules lymphoïdes à la biopsie et évolution vers la maladie de Waldenström ou un lymphome dans 15 % des cas++
- **Hémoglobiurie paroxystique aigue à frigore (HPF)**
- rare
- enfant post rougeole, varicelle, oreillon de l'enfant
- hémolyse intravasculaire aigue déclenchée par le froid
- TDA (+) type Complément ou IgG + complément
- Présence d'hémolysine biphasique de Donath et Landsteiner

➤ **Les AHAI à TDA (-)**

- 5% des cas
- Cf. faux négatifs

2.5. DIAGNOSTIC DIFFERENCIEL DES AHAI

Se fait notamment avec les autres anémies hémolytiques d'origine immunologique (TDA+).

2.6. TABLEAU RECAPITULATIF DES AHAI (Tableau 1)

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des anémies hémolytiques auto-immunes

Amplitude thermique	Autoanticorps chaud	Autoanticorps froid	
Nature	IgG+Complément IgG	IgM+Complément	IgG+complément
Spécificité	IgG anti-Rhésus	IgM anti-I/i	IgG anti-P
Spécificité du TDA	IgG+Complément IgG	Complément	IgG+complément
Autres tests		Agglutinines froides +++	Agglutinines froides +/- Hémolysines biphasiques de Donath-landsteiner
Lieu de l'hémolyse	surtout intratissulaire	Surtout intravasculaire	
Etiologies	- Idiopathique = 50% - Secondaire = Maladies lymphoïdes, collagénoses, Aldomet et déficit immunitaire	Agglutinines froides (IgM) - aigue post-infectieuse (mycoplasme ou virus) - chronique (idiopathique ou Waldenström)	Hémolyse biphasique (IgG) Aigue post virale Syphilis

5. LES AUTRES ANEMIES HEMOLYTIQUES IMMUNOLOGIQUES

Il s'agit des anémies hémolytiques à TDA (+) :

- La MHNN par incompatibilité fœto-maternelle (voir cours dédié)
- L'hémolyse post-transfusionnelle (voir cours dédié)
- L'hémolyse immuno-allergique

5.1. L'ANEMIE HEMOLYTIQUE IMMUNO-ALLERGIQUE

Dans l'AHIA, l'hémolyse est déclenchée par une 2^{ème} prise médicamenteuse et cesse totalement à l'arrêt du médicament. Médicaments les plus impliqués : pénicilline, céphalotine, rifampicine, phénacétine, quinine, diclofénac, ibuprofène, furosémide, chlorpromazine, oxaliplatine

Il existe deux mécanismes :

- **AHIA à complexe immun :**
 - D'abord il se forme un immunocomplexe anticorps-médicament qui ensuite s'adsorbe sur les hématies
 - L'hémolyse est **intravasculaire** par IgM donnant un TDA + de type complément
 - Les médicaments les plus impliqués sont : la quinine, quinidine, aspirine, phénacétine, glafénine et rifampicine,
- **AHIA à haptène :**
 - Le médicament se fixe comme une haptène. L'anticorps est une IgG qui ne se fixe qu'en présence du médicament. Le TDA est généralement (-).
 - L'hémolyse est **intra ou extra vasculaire**
 - Les médicaments les plus impliqués sont : la quinine, quinidine, aspirine, phénacétine, glafénine et rifampicine,
 - Pénicilline , ampicilline, céphalosporine
- **Le Duclofénac :**
 - induit un néoantigène sur les GR aboutissant à une AHAI + AHIA

6. LE TRAITEMENT DES ANEMIES HEMOLYTIQUES AUTOIMMUNES

6.1. LE TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE

a. Les transfusions

- Ne sont pas la règle, risquent d'aggraver l'autoimmunisation
- Réservées aux anémies **sévères** surtout du sujet âgé
- En cas d'agglutinines froides, le sang et la salle doivent être réchauffées à 37 °C, et la transfusion menée à un débit faible sous surveillance stricte

b. Folates

- Per os
- Systématique
- Rationnel : les folates sont consommées par la régénération médullaire.

6.2. LE TRAITEMENT ETIOLOGIQUE

a. AHAI idiopathiques

- **La corticothérapie :**
 - Prédnisone : per os 1,5 - 2 mg/kg
 - Jusqu'à contrôle de l'hémolyse
 - Dégression sur 4 à 6 semaines jusqu'à 0,5 mg/kg et arrêt en 3-6 mois.
 - Évolution sous corticothérapie :
 - Favorable : 70 % des cas,
 - Échec : si pas de résultats au bout de 3 semaines.
- **Ig IV :**
 - Indiqué en traitement d'appoint
 - Résultats : 1/3 des cas
- **Splénectomie :** Indiquées en cas :
 - D'échec ou rechute sous corticothérapie
 - de séquestration splénique
- **Immunosupresseurs :**
 - cyclophosphamides, azathioprine, cyclosporine, mycophénilate-mofétyl
 - sont indiqués en cas d'échec corticothérapie + splénectomie
- **Le rituximab (anti-CD20) :** est indiqué dans les cas réfractaires
- **Échanges plasmatiques :**
 - Permettent l'épuration de l'anticorps
 - Indiqués en cas d'hémolyse suraigue

b. Formes secondaires

- Formes virales à mycoplasme : passer le cap avec une corticothérapie
- Autres étiologies : il est important de traiter l'affection sous-jacente

CHAPITRE II : LES ANEMIES HEMOLYTIQUES NON IMMUNOLOGIQUES

7. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES PAR FRAGMENTATION

7.1. LE PURPURA THROMBOPÉNIQUE THROMBOTIQUE (PTT) OU SYNDROME DE MOSCHOWITZ

Cette microangiopathie (MAT) associe, dans sa forme complète, la pentade classique : « hémolyse mécanique + thrombose + thrombopénie + atteinte du système nerveux central + atteinte rénale ».

Actuellement, on observe plutôt la triade « **anémie hémolytique schizocytaire + thrombopénie + signes neurologiques** ».

L'association « ictère + thrombopénie » d'installation récente indique la recherche en urgence de schizocytes sur frottis de sang afin d'éliminer un PTT

± Le PTT, prédomine chez l'adulte jeune de sexe féminin. Il s'agit d'une **URGENCE DIAGNOSTIQUE + THERAPEUTIQUE.**

- TDA (-)
- **SCHIZOCYTOSE > 1 % +++**
- Il existe des formes de PTT :
 - **idiopathiques** : dues à un déficit sévère en ADAMTS-13 secondaire à sa destruction auto-immune
 - **congénitales** : génétiquement déterminées
 - **secondaires** à : cancer, greffe, grossesses...

NB : La métalloprotéase ADAMTS-13 est responsable du clivage des multimères de facteur von Willebrand de haut poids moléculaire. En cas de son déficit, les plaquettes s'adsorbent sur le facteur von Willebrand non clivé générant des microthrombi (cerveau, rein ...), une thrombopénie et une hémolyse aigue.

- Le diagnostic en urgence se fait sur les arguments clinico-biologiques
- Le dosage de l'ADAMTS-13 permet un diagnostic rétrospectif (effectué dans de rares laboratoires à l'étranger)
- Le traitement est basé sur les échanges plasmatiques urgents et quotidiens +/- Rituximab en cas d'échec ou de rechute

7.2. LE SYNDROME HEMOLYTIQUE ET UREMIQUE OU SHU

- Atteint l'enfant
- Anémie hémolytique schizocytaire + thrombopénie + insuffisance rénale prédominante
- Pas de déficit en ADAMTS-13
- Etiologie : Infection par E coli → cytotoxicité
- Les échanges ne sont pas indiqués chez l'enfant
- Le SHU de l'adulte est dit atypique (SHUa). Dans ce cas les échanges plasmatiques sont inconstamment efficaces.

7.3. ORIGINE CARDIAQUE

- L'hémolyse est mécanique, typiquement sur valves mécaniques non endothéliales.
- Schizocytose

- Le changement valvulaire est nécessaire pour arrêter l'hémolyse

8. ANEMIES HEMOLYTIQUE EN CONTEXTE INFECTIEUX ET CHIMIQUE

8.1. CONTEXTE INFECTIEUX

a. Causes parasitaires :

- Le paludisme au cours de l'accès palustre simple et de la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Le diagnostic (+) : goutte épaisse et immunofluorescence indirecte (IFI)

b. Causes infectieuses :

- Les septicémies à clostridium perfringens post-abortum provoquent une hémolyse intravasculaire par lyse toxique des couches phospholipidiques membranaires. Diagnostic(+) par hémocultures.
- Autres germes : streptocoques, staphylocoques...

8.2. LES ANEMIES HEMOLYTIQUES TOXIQUES/CHIMIQUES

L'hémolyse est intravasculaire soit par altération du métabolisme globulaire soit par lyse membranaire.

c. Les toxiques chimiques

- **Industriels/agriculture** : hydrogène arsénié, chlorates, plomb
- **Domestiques** : naphtaline, plomb (diagnostic (+) : plombémie, plomburie provoqués, dosage urinaire de la protoporphirie érythrocytaire).
- **Médicamenteux** : phénacétine, sulfamides, salazopirine, sulfures ...

d. Les toxiques physiques

- Eau distillée (> 100 mL en IV)
- Brulures étendues et gelures

e. Les toxines animales

- Les venins

f. Les toxines végétales

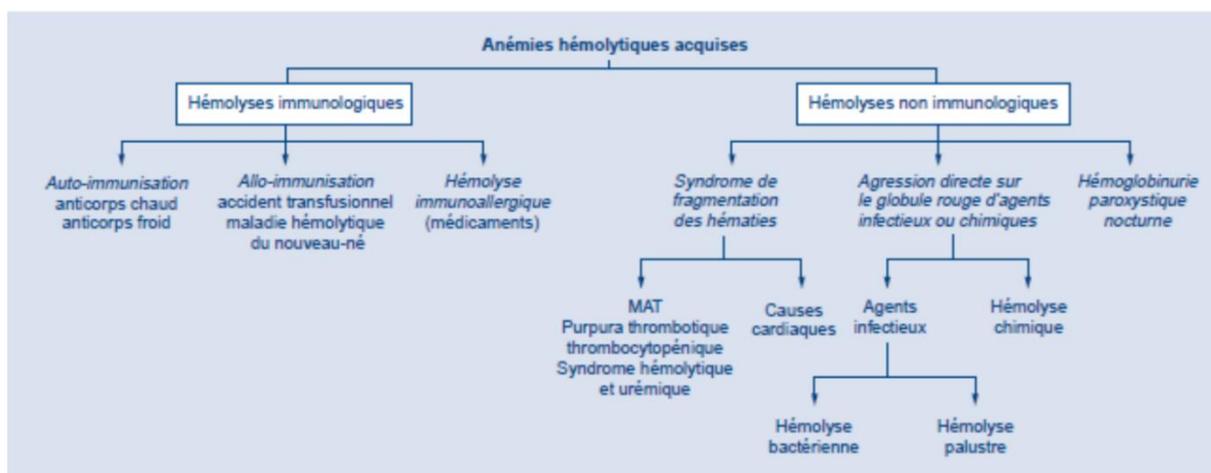
- Certains champignons vénéneux

9. L'HEMOGLOBINURIE PAROXYSTIQUE NOCTURNE (HPN) = MALADIE DE MALADIE DE MARCHIAFAVA-MICHELI

- C'est une maladie rare et c'est **la seule anémie hémolytique corpusculaire acquise**.
- Physiopathologie :
 - Sensibilité accrue des hématies à l'action hémolytique du complément
 - Par déficit :
 - Sur les toutes les cellules sanguines (hématies, leucocytes, plaquettes et monocytes)
 - en protéines GPI ancrées régulatrices du complément
 - suite à une mutation **acquise** des cellules souche hématopoïétiques
- Prédominance : adulte jeune
- Clinique :
 - Pancytopénie + thromboses insolites
 - Anémie par hémolyse intravasculaire d'exacerbation nocturne avec des urines coca cola au matin
- Biologie :
 - Mise en évidence de du déficit d'au moins deux protéines GPI ancrées : CD55-CD59 sur les hématies +/- CD67 sur les polynucléaires +/- CD58 sur les lymphocytes en cytométrie de flux
- L'évolution peut se faire vers :
 - Pancytopénie

- Thrombose
- Insuffisance rénale
- la leucémie aigüe myéloïde
- Traitement :
 - Transfusions itératives (perturbent les dosages en cytométrie de flux)
 - Traitement martial (fuite urinaire)
 - Androgènes
 - Traitement thrombotique
 - Greffe de moelle si aplasie sévère et donneur familial HLA compatible

10. ALGORITHMHE DIAGNOSTIQUE DES ANEMIES HEMOLYTIQUES ACQUISES



TESTS AUTOEVALUATION

QROC

1. Quels sont les examens biologiques à indiquer en premier devant la découverte d'une association « anémie + hémolyse » d'apparition récente ?
2. Indiquer les résultats possibles d'un TDA dans les anémie hémolytique auto-immune à autoanticorps chauds ?

QCM

QCM 1. Les anémies hémolytiques suivantes vont intervenir des anticorps dans leur mécanisme physiopathologique :

- A. L'anémie hémolytique auto-immune
- B. La maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)
- C. La maladie de Marchiafava-Micheli
- D. L'hémoglobiurie paroxystique aigue à frigore
- E. Les anémies hémolytiques septiques

QCM 2. Sont des anémies hémolytiques acquises à TDA négatif :

- A. La maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)
- B. La maladie de Marchiafava-Micheli
- C. Le syndrome de Moschowitz
- D. Les anémies hémolytiques immuno-allergiques
- E. Les anémies palustres

QCM 3. L'hémoglobunurie paroxystique nocturne :

- A. Est aussi appelée maladie de Marchiafava-Micheli
- B. est la seule anémie corpusculaire acquise
- C. est due à une sensibilité excessive des hématies au complément
- D. est la seule anémie extracorpulaire
- E. est typiquement une maladie de l'enfant

QCM 4. Le purpura thrombotique thrombocytopénique :

- A. est une urgence diagnostique et thérapeutique
- B. porte aussi le nom de maladie de Marchiafava-Micheli
- C. peut se manifester par un ictère + thrombopénie
- D. peut se manifester par des signes neurologiques
- E. requiert un dosage de L'ADAMTS-13 en urgence

Réponses :

1. - Le TDA : permet d'orienter vers une cause immunologique
- La recherche de schizocytes sur frottis de sang : permet d'éliminer le PTT, urgence diagnostique et thérapeutique

2.

- IgG + C' = 45 %
- IgG = 35 %
- C' = 10 %
- IgA + IgG = 5 %
- IgM + IgG + C' = 5 %
- Des faux négatifs peuvent exister lorsque les anticorps sont :
 - en nombre < seuil de détection (= 150 molécules / hématie)

- des IgA (1%), non détectables par les TDA IgG + complément. C'est l'indication du TDA à l'IgA en cas de forte suspicion d'AHAI à TDA (-)
- des IgM : qui s'éluent facilement ne laissant que le complément à la surface des hématies
- Des faux positifs chez les patients alités
 - QCM 1** : A B D
 - QCM 2** : B C D
 - QCM 3** : A, B C
 - QCM 4** : A C D