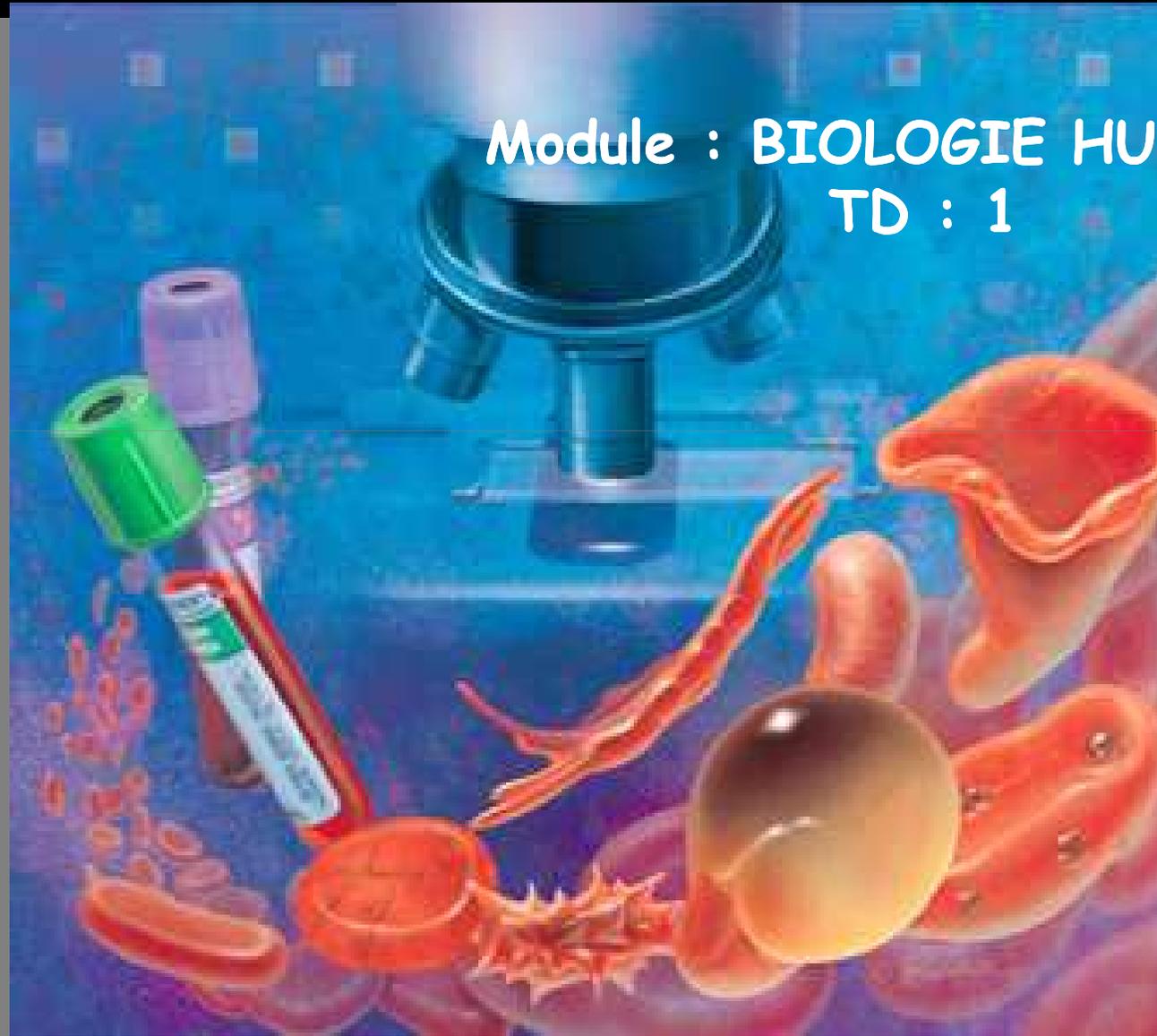


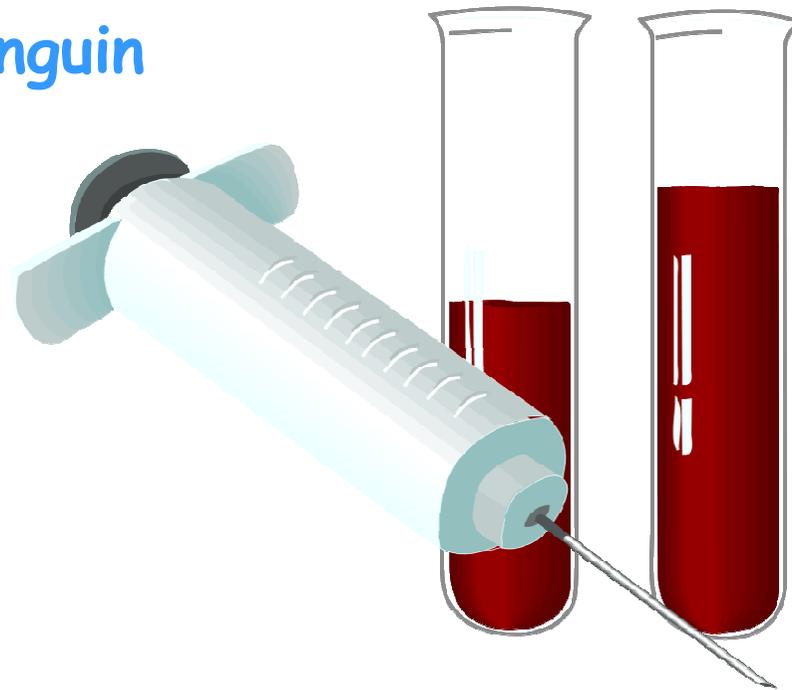
LES ANALYSES DE SANG

Module : BIOLOGIE HUMAINE
TD : 1



Plan du TD

- I- Le prélèvement de Sang
- II- Les différents types d'analyses de sang
- III- L'Hémogramme ou NFS
- IV - Le Frottis Sanguin



I- LE PRELEVEMENT DE SANG





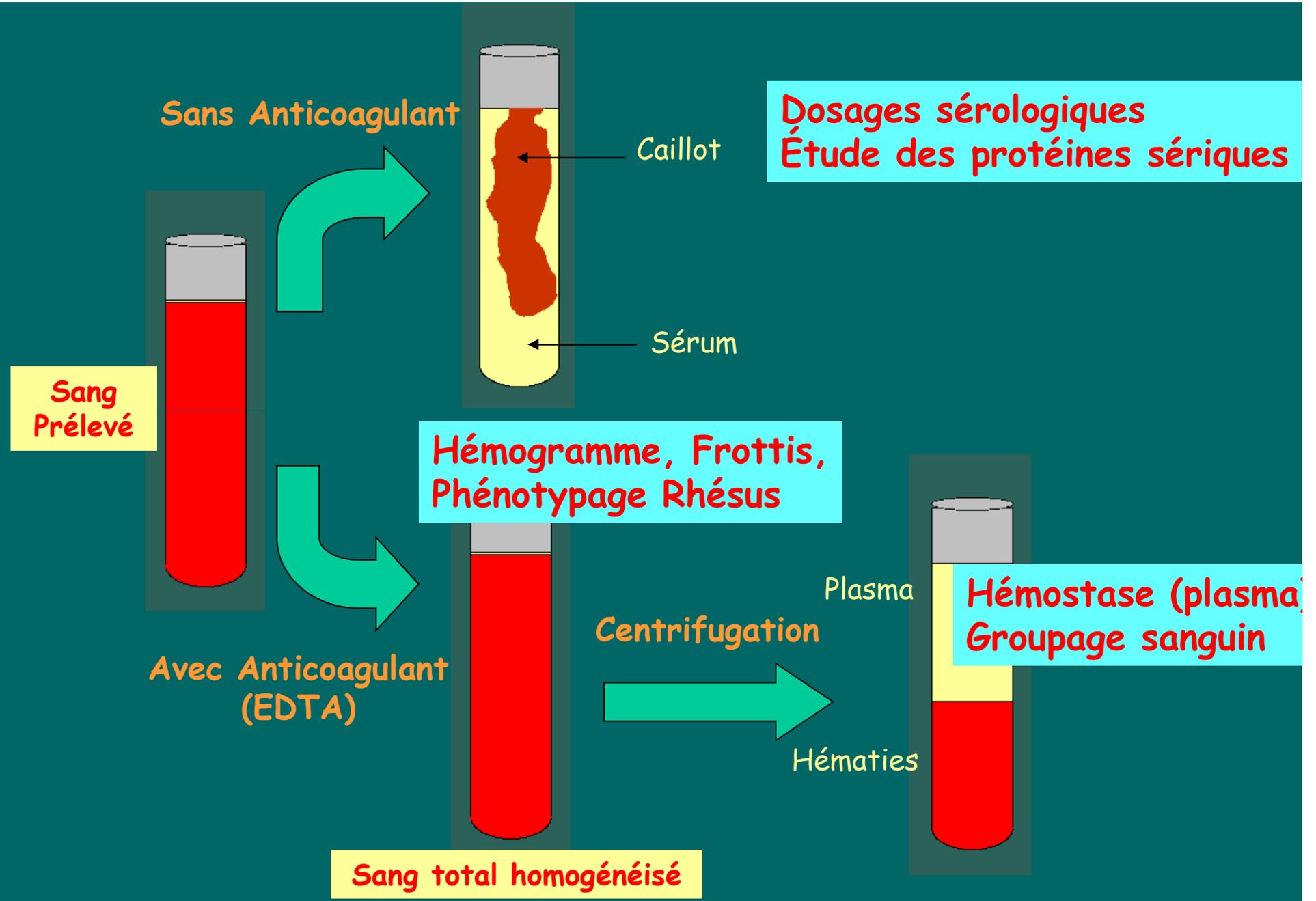
Patient à jeûn

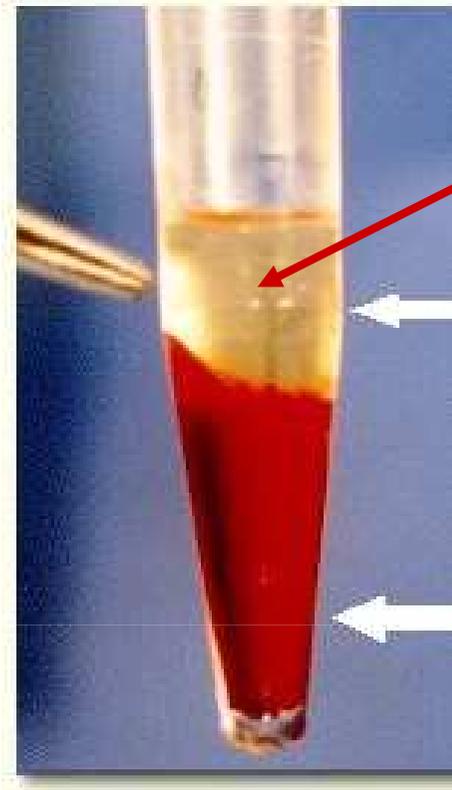
Sang veineux

Tube sous vide

2 à 5 ml

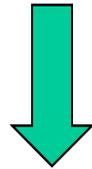
Les Différents Traitements Du Prélèvement Sanguin





Sérum

Obtenu par
sédimentation du sang
(coagulation)



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

Plasma

Obtenu par
centrifugation du
sang + anticoagulant

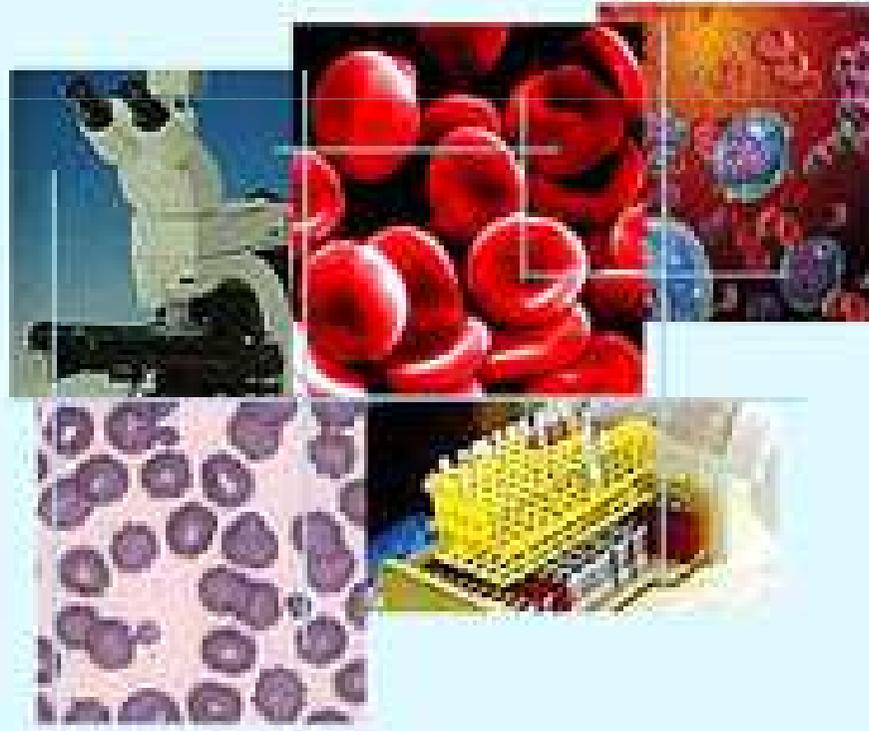


Contient toutes les
protéines du sang

Donc :

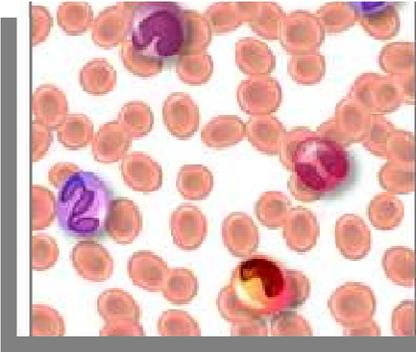
Sérum = Plasma - Fibrinogène

II- LES DIFFERENTS TYPES D' ANALYSES DE SANG



LES DIFFERENTS TYPES D'ANALYSES DE SANG

Hématologie



Bactériologie-Parasitologie



Biochimie



Hématologie

Cytologie

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

Immuno-Hématologie

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

Sérologie virale, bactérienne et parasitaire

Bilan de coagulation

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



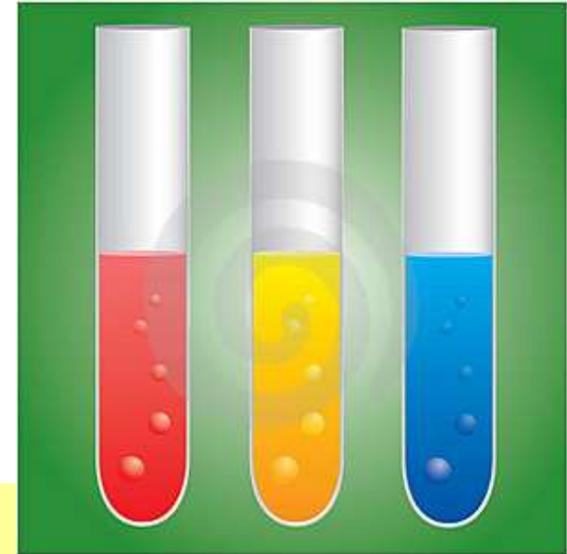
Bactériologie-Parasitologie

Frottis Sanguin (Parasites...)

Hémoculture (Septicémie...)



Biochimie



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

III- LA NUMERATION- FORMULE SANGUINE (NFS)

OU HEMOGRAMME



Analyse quantitative du sang:

Numération des éléments figurés



Hématies
Leucocytes
Plaquettes
Réticulocytes

Établissement formule leucocytaire

Mesure de l'hématocrite



Hte

Dosage Hémoglobine



THS

Mesures Constantes érythrocytaires



VGM
CCMH
TCMH

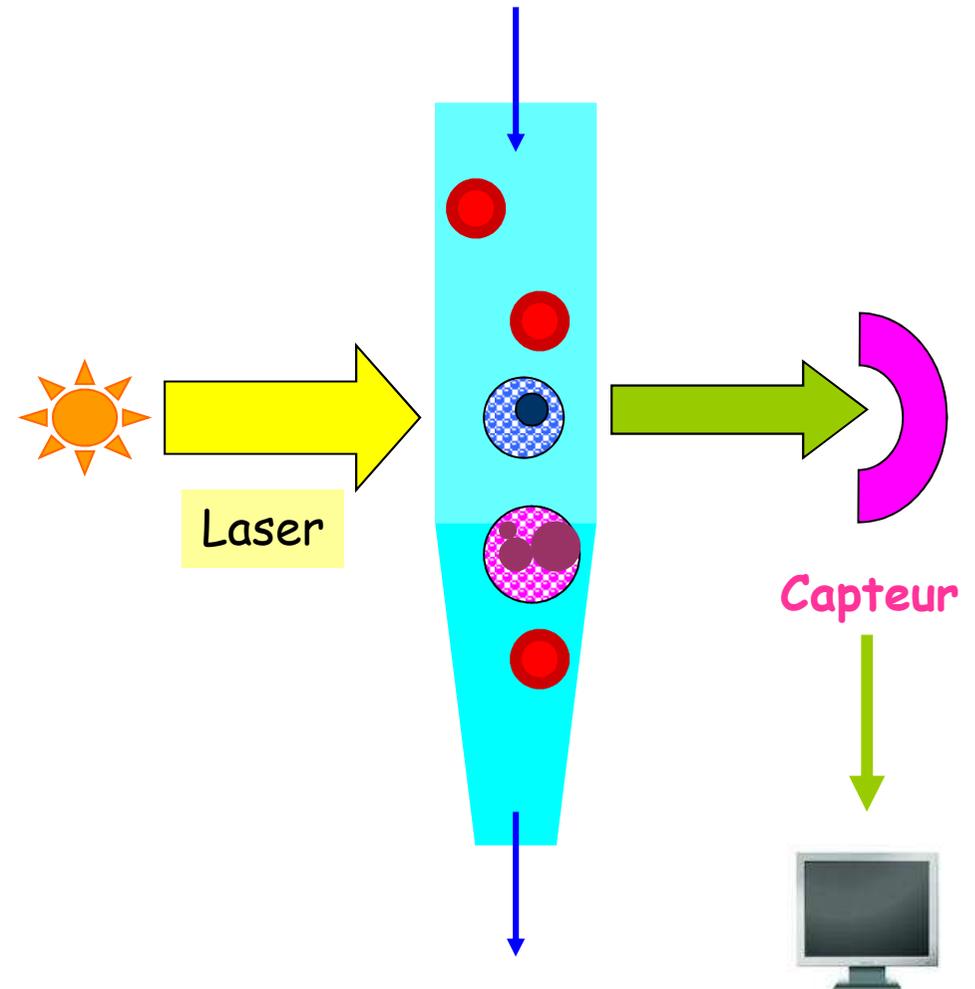
Automate



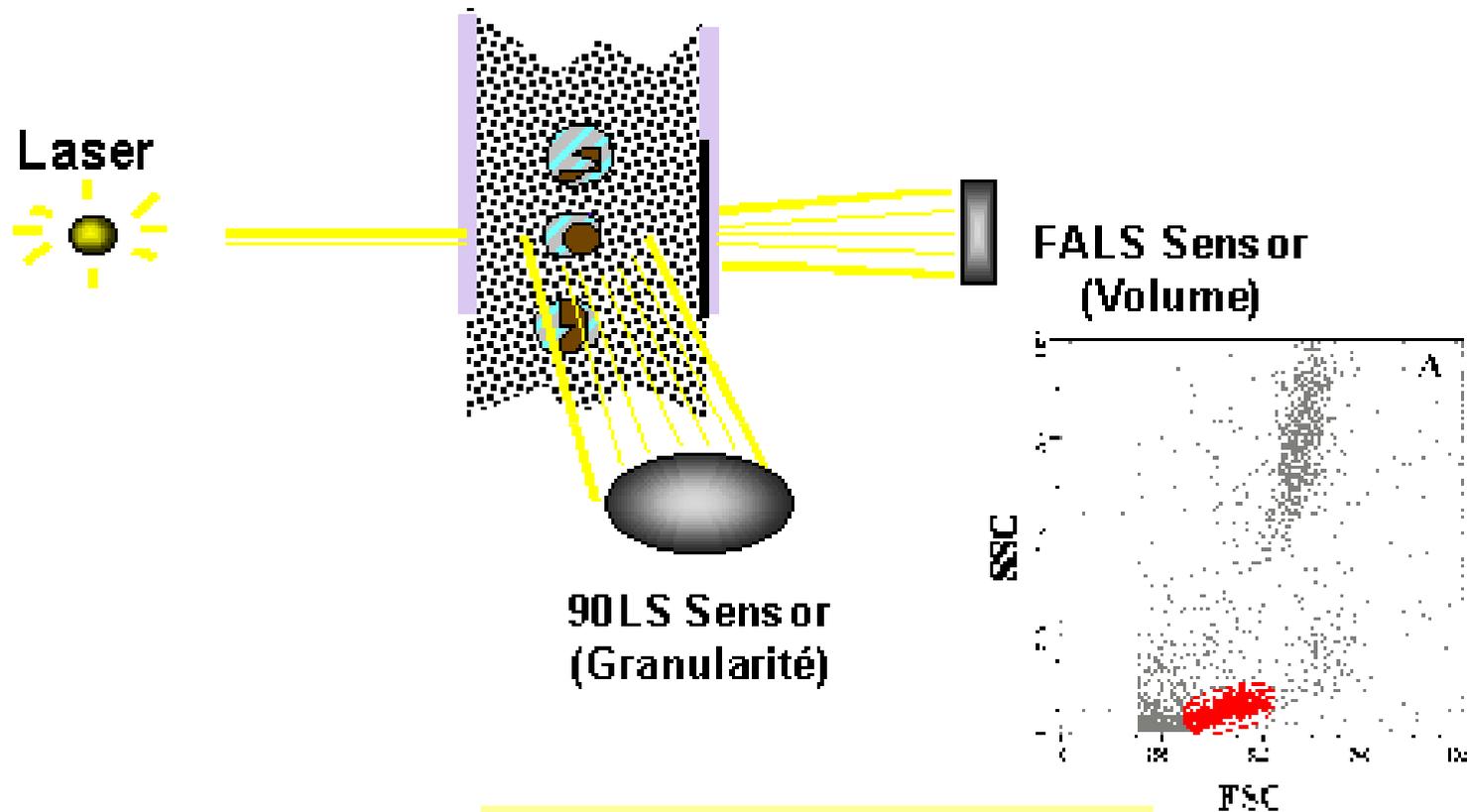
Jusqu'à **2000 échantillons** de sang traités par jour

Technique de mesure : cytométrie en flux

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

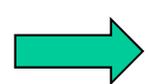
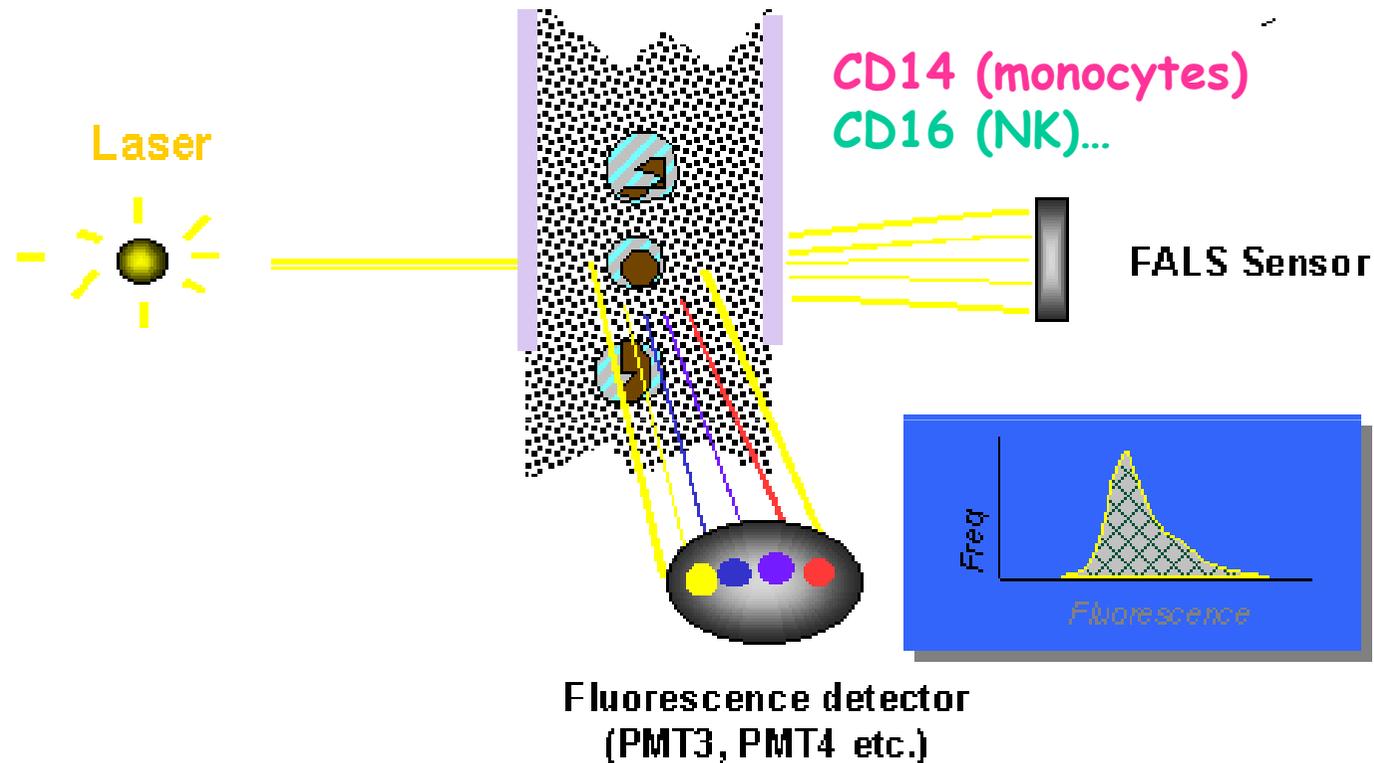


1) Analyse **directe** de la lumière diffusée



Taille des cellules
Volume
Nombre...

2) Analyse de la fluorescence émise après marquage des cellules



Type de cellules (granulocytes, lymphocytes...)

Valeurs Usuelles de La NFS

1) Les Hématies

Femme

Homme

Hématies (millions par mm³)*

4.0 - 5.3

4.2 - 5.7

Taux d'Hémoglobine
(g/100ml de sang)*

11-15

12-17

Hématocrite (%)**

37 - 46

40 - 52

VGM (micron cube)*

80 - 100

TCMH (pg/ GR)**

28 - 32

CCMH (%)**

30 - 35

Réticulocytes (par mm³)*

50-100 .10³

* Paramètre mesuré

** Paramètre calculé



2) Les Leucocytes

Leucocytes (Unités/mm³) 4000 - 10 000

Formule Leucocytaire

Neutrophiles (Unités/ mm ³)	3000 – 6000	(40 – 75 %)
Éosinophiles (Unités/ mm ³)	50 – 500	(1 – 6 %)
Basophiles (Unités/ mm ³)	0 – 90	(0 – 1 %)
Lymphocytes (Unités/ mm ³)	1500 – 3000	(20 – 45 %)
Monocytes (Unités/ mm ³)	100 – 700	(2 – 10 %)

3) Les Plaquettes

(Unités/mm³)

150 000 – 400 000

a) NUMERATION DES GLOBULES ROUGES

Quel renseignements cliniques ???

Nombre

Paramètres

Hématocrite

Taux d'hémoglobine

VGM

TCMH

CCMH



Variations du nombre de globules rouges

AUGMENTATION



Polyglobulie

(+50%)



Réactive (altitude...)

EPO

Tumeur médullaire...

DIMINUTION



Anémie



Anémie Ferriprive

Anémie génétique

Anémie aplasique

Anémie régénérative...

b) PARAMETRES LIES AUX GLOBULES ROUGES

Quel renseignements cliniques ???

Taux d'hémoglobine sanguin **THS**

Hématocrite **Hte**

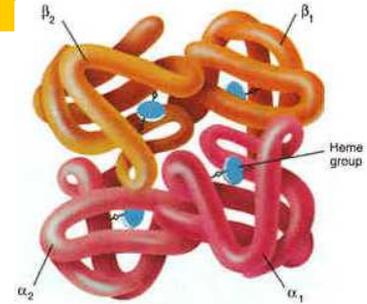
Volume Globulaire Moyen **VGM**

Concentration Corpusculaire Moyenne en Hg **CCMH**

Teneur Corpusculaire Moyenne en Hg **TCMH**

Constantes érythrocytaires

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



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

Valeurs normales : 11 à 17 g/dL



Variations

↗ Polyglobulie (à confirmer par numération)

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

2) Hématocrite

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

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

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

Valeur moyenne : 37 à 52 %



Variations



Polyglobulie (Dopage à l' EPO)...

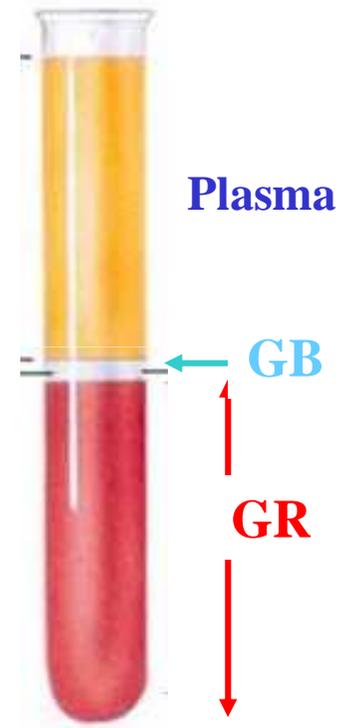
Anémie

Hématocrite

100%

45%

0%



3) Le Volume globulaire Moyen ou VGM

Définition : Volume moyen d'un globule rouge

Obtention : Mesuré par automate ou calculé

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



Valeur normale : 80 à 100 μm^3 ou fentolitres



Variations

Macrocytose

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

Microcytose

(Anémie ferriprive, thalassémie...)

4) La CCMH ou Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine:

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

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

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

Valeur normale : 30 à 35 %



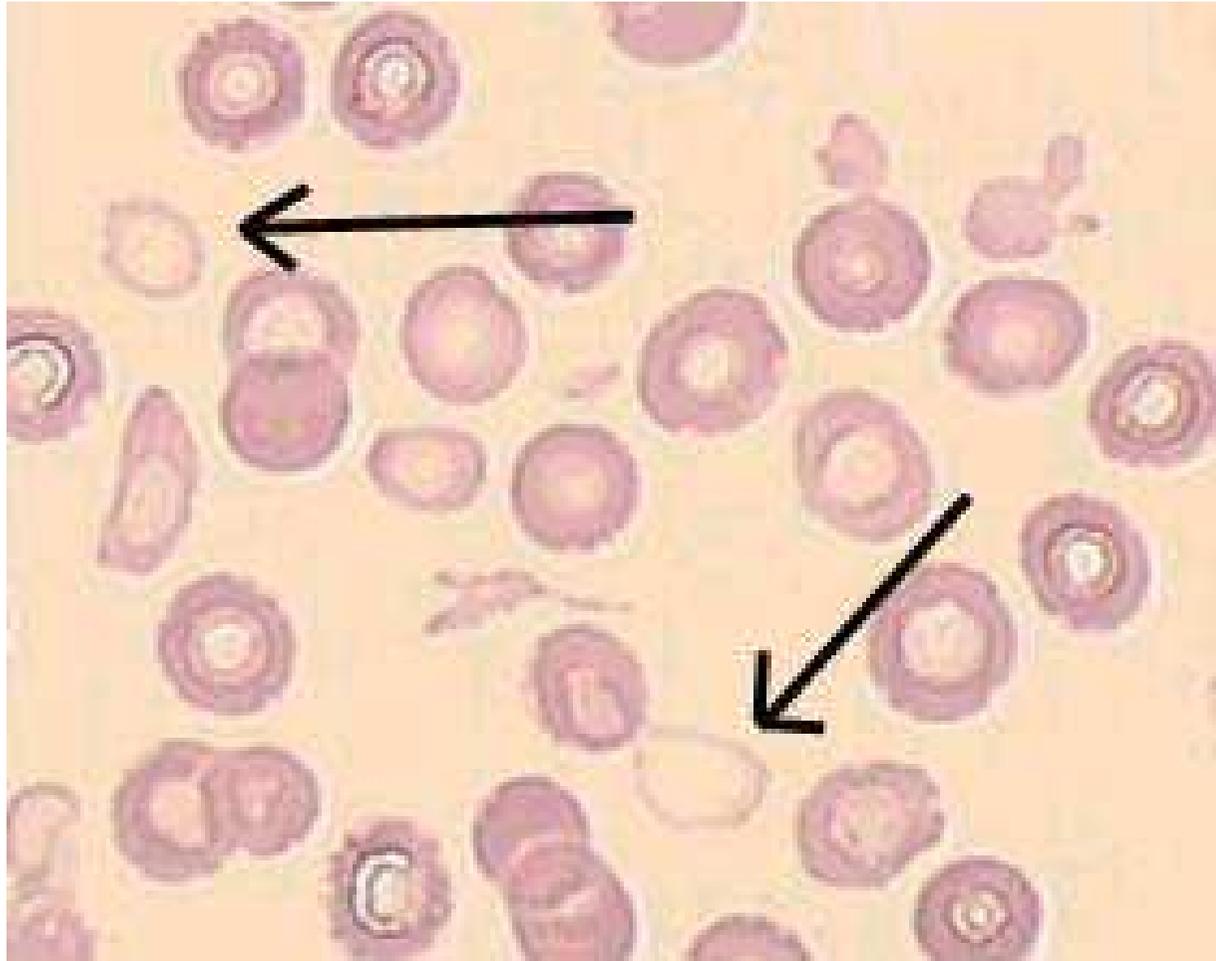
Variations



Hypochromie

(visible sur frottis car hématies claires)

(Anémie ferriprive...)



<http://www.bioltrop.cooperation.org>

5) La TCMH ou Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine:

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

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

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

Valeur normale : 28 à 32 pg/GR



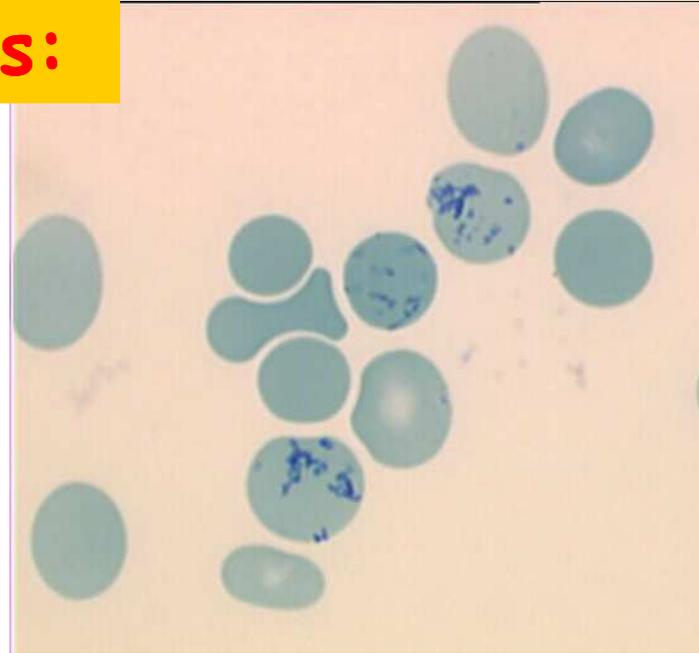
Hypochromie
(Anémie ferriprive...)

6) Le nombre de réticulocytes:

Jeunes globules rouges qui quittent la moelle osseuse

Valeur normale

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



Variations

Augmentation → anémie régénérative

Diminution → anémie arégénérative

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

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

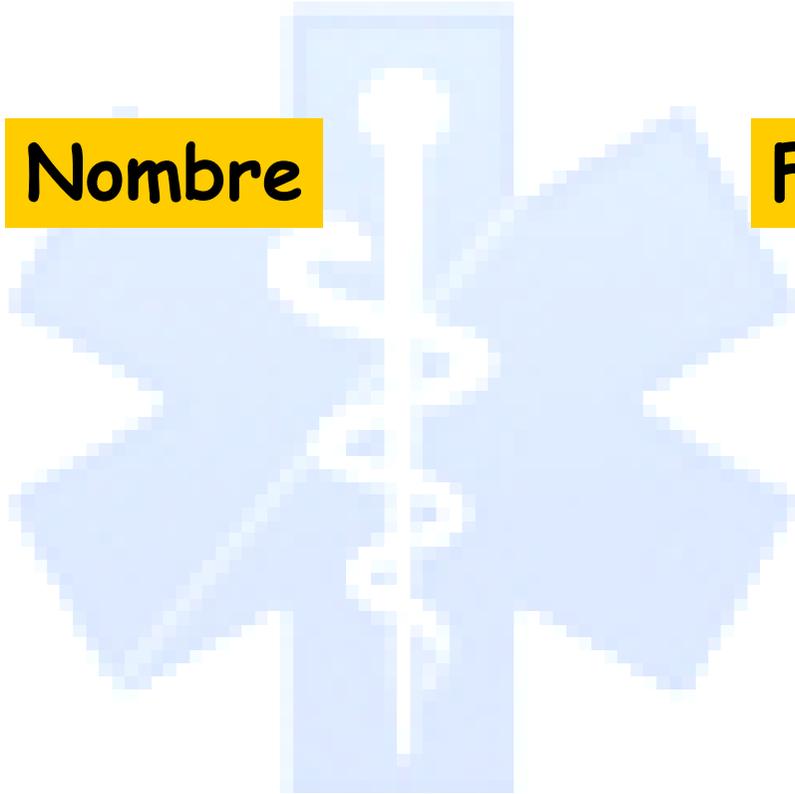
c) NUMERATION DES GLOBULES BLANCS

Quel renseignements cliniques ???

Nombre

Formule Leucocytaire

(Chap.1 du cours)



Variation du nombre de globules blancs



Hyperleucocytose

(leucémie, infection bactérienne, parasitose...)



Leucopénie

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

Variations quantitatives des Globules Blancs

Polynucléaire neutrophile

Polynucléose neutrophile $> 7000 / \text{mm}^3$

Neutropénie $< 1800 / \text{mm}^3$

Agranulocytose $< 500 / \text{mm}^3$

Polynucléaire éosinophile

Eosinophilie $> 500 / \text{mm}^3$

Lymphocytes

Hyperlymphocytose $> 4000 / \text{mm}^3$

Lymphopénie $< 1500 / \text{mm}^3$

Monocytes

Monocytose $> 700 / \text{mm}^3$



Neutrophiles



Polynucléose neutrophile

Infection bactérienne,
inflammation, nécrose, leucémie...

Neutropénie (agranulocytose!)

Médicaments toxiques,
chimiothérapie, leucémie..

Éosinophiles



Éosinophilie

Parasitose, Maladie allergique

Basophiles



Polynucléose basophile

Colite chronique, leucémie, maladie de Hodgkin ...

Lymphocytes



Hyperlymphocytose

Leucémie, hépatite,
Syndrome mononucléosique

Lymphopénie

SIDA, leucémie..

Monocytes



Monocytose

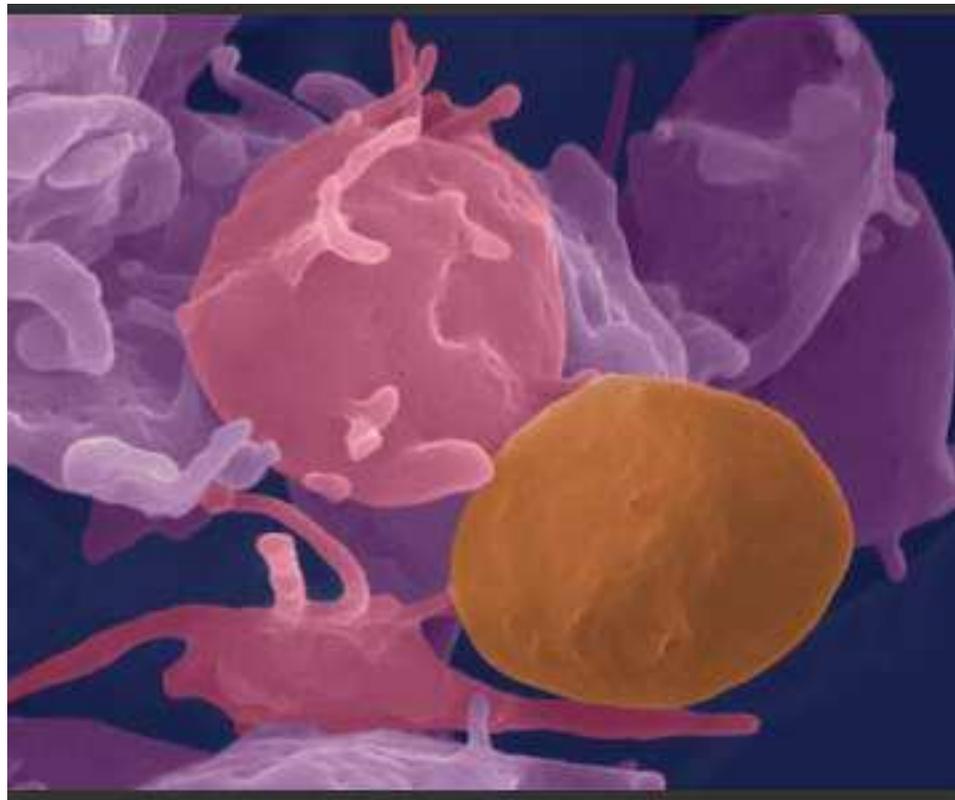
Leucémie, tuberculose, inflammation...

Monocytopénie

Leucémie

d) NUMERATION DES PLAQUETTES

Quels renseignements cliniques ???



Variation du nombre de plaquettes

150 000 à 400 000 /mm³

Thrombocytose

Cirrhose, maladie de Vaquez, maladie infectieuse...

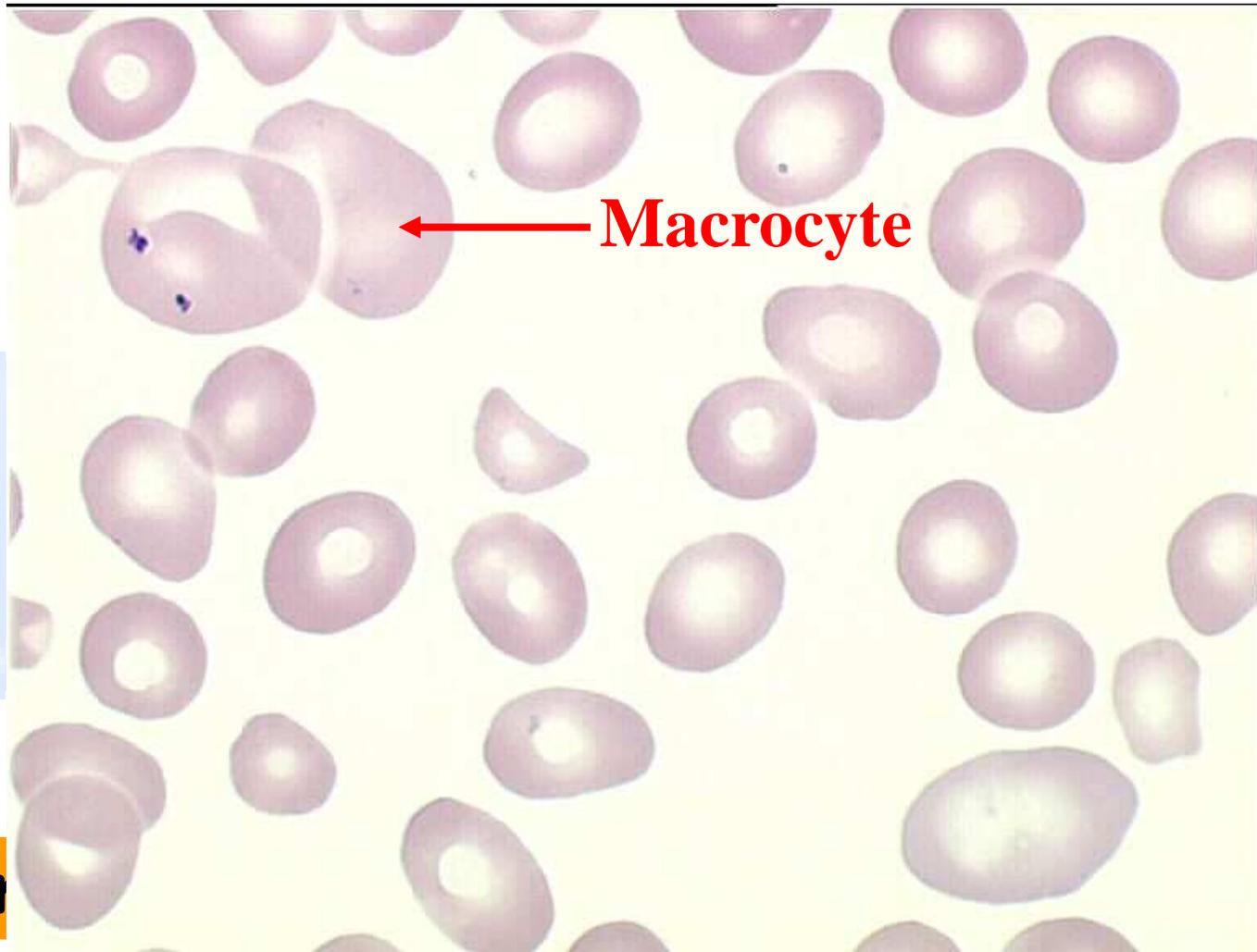
Thrombocytopénie

Diminution de
la production

Aplasie médullaire, leucémie...

Augmentation de
la destruction

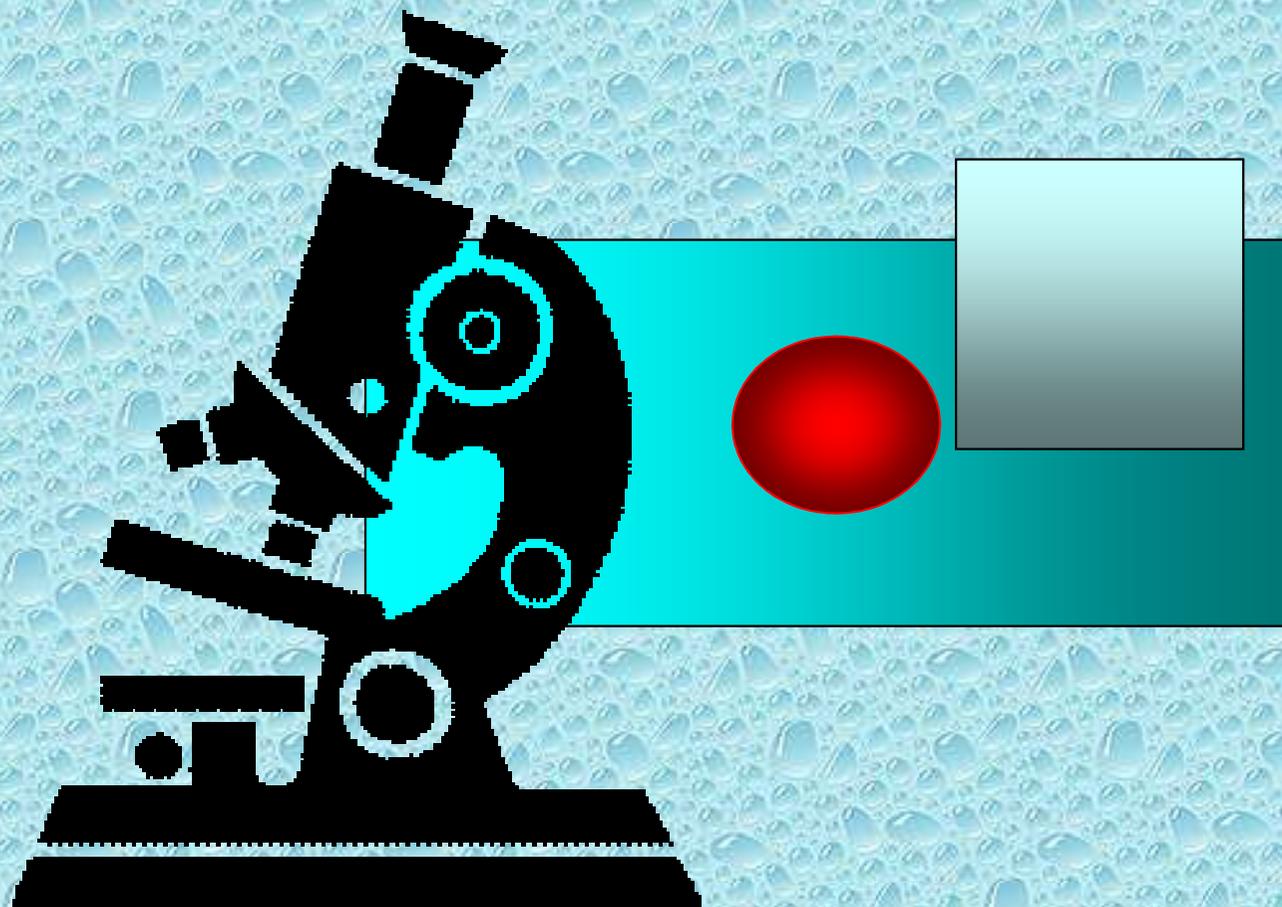
Infection virale, alcoolisme,
médicament, maladie auto-
immune (purpura)...



Exer

Confirmée par observation directe des GR sur frottis

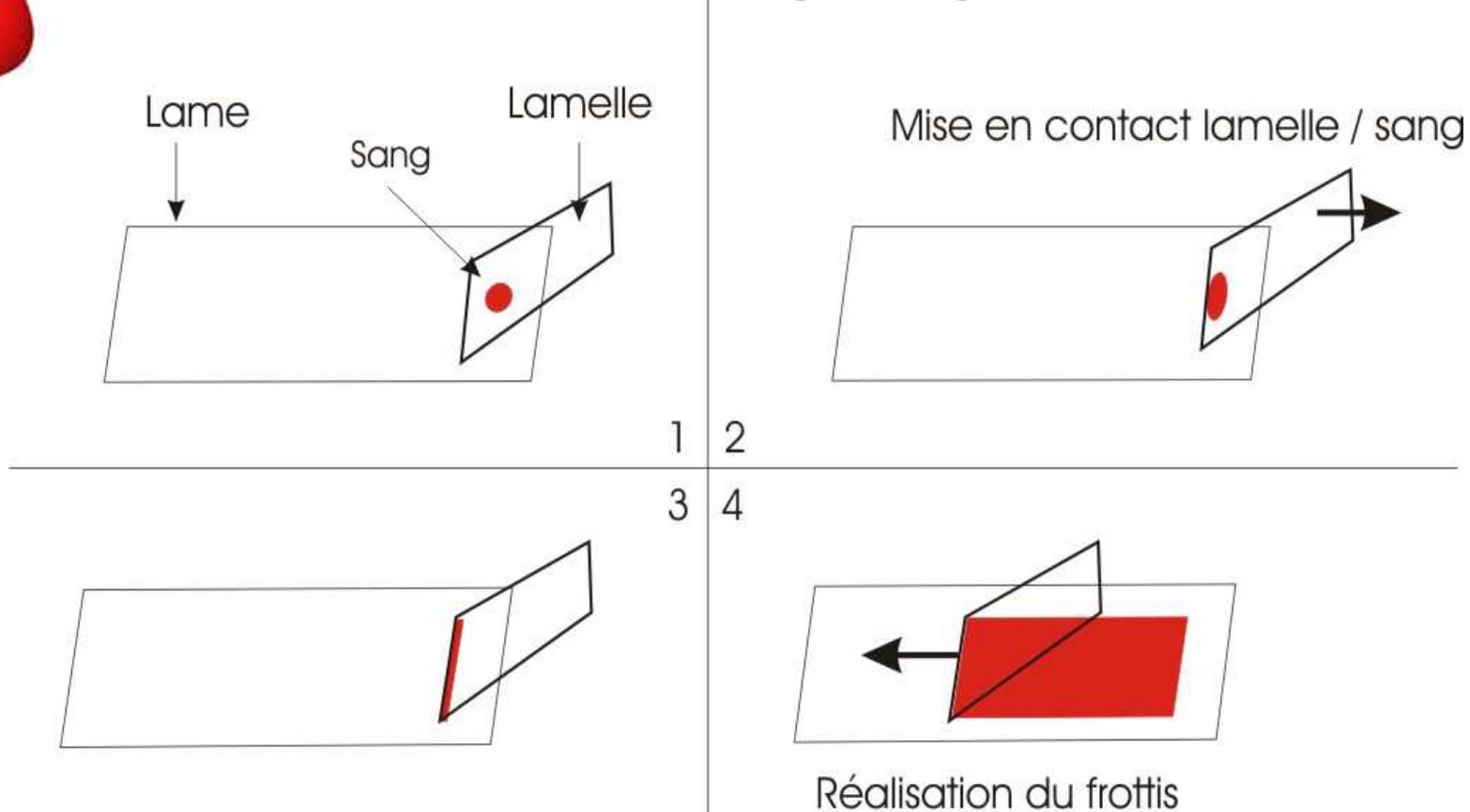
IV-LE FROTTIS SANGUIN



Réalisation d'un frottis sanguin



Réalisation du frottis sanguin : Figures 1 à 4



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

Coloration au May-Grünwald Giemsa

1- Fixation

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

Laisser agir 3 minutes.

2- Coloration au May-Grünwald

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

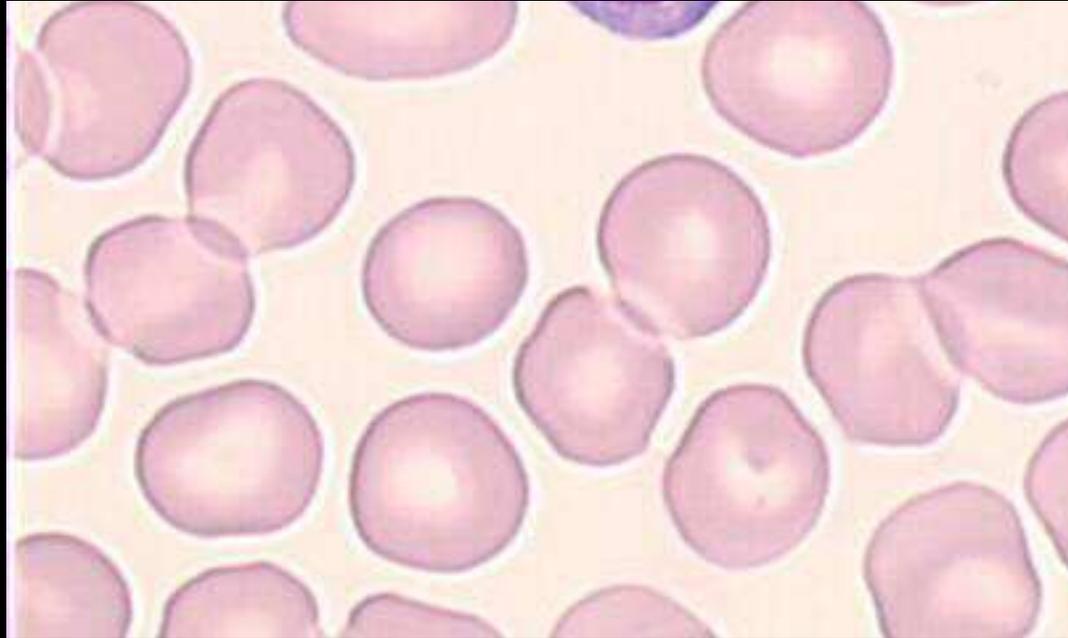
3- Coloration au Giemsa

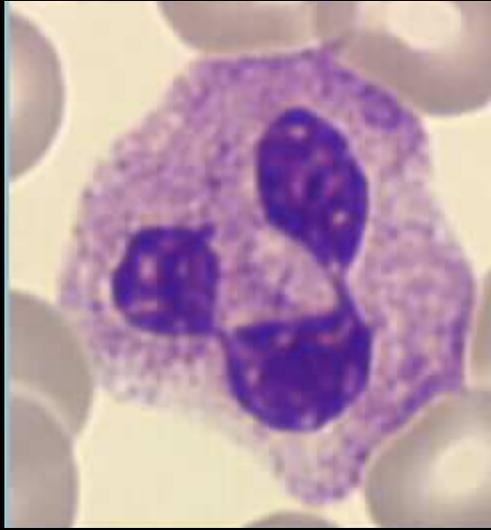
- Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm³ d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.
- Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès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

4- Séchage

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

Les Hématies

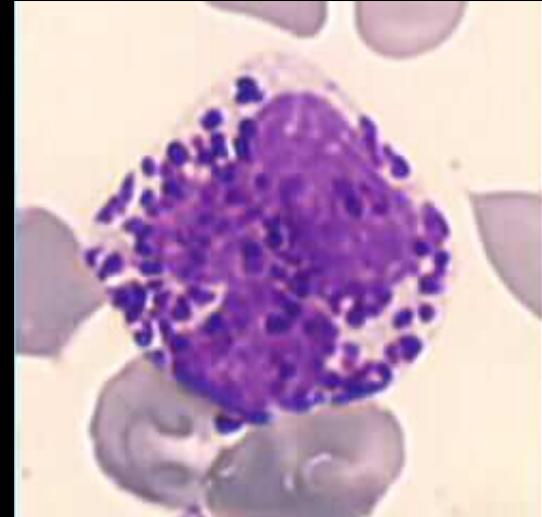




G. Neutrophile

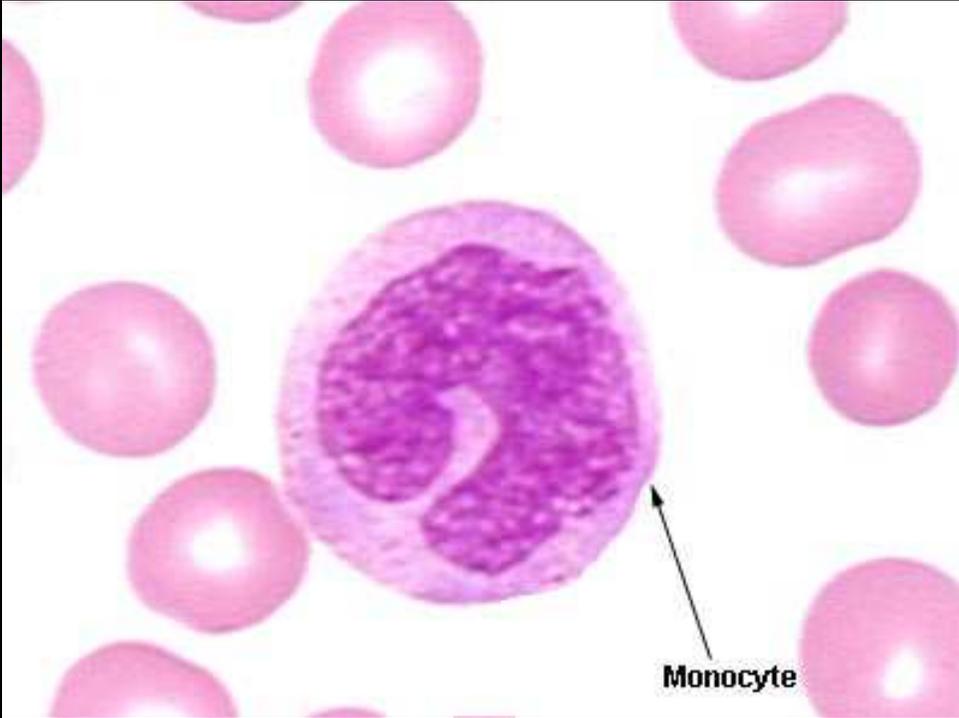


G. Éosinophile

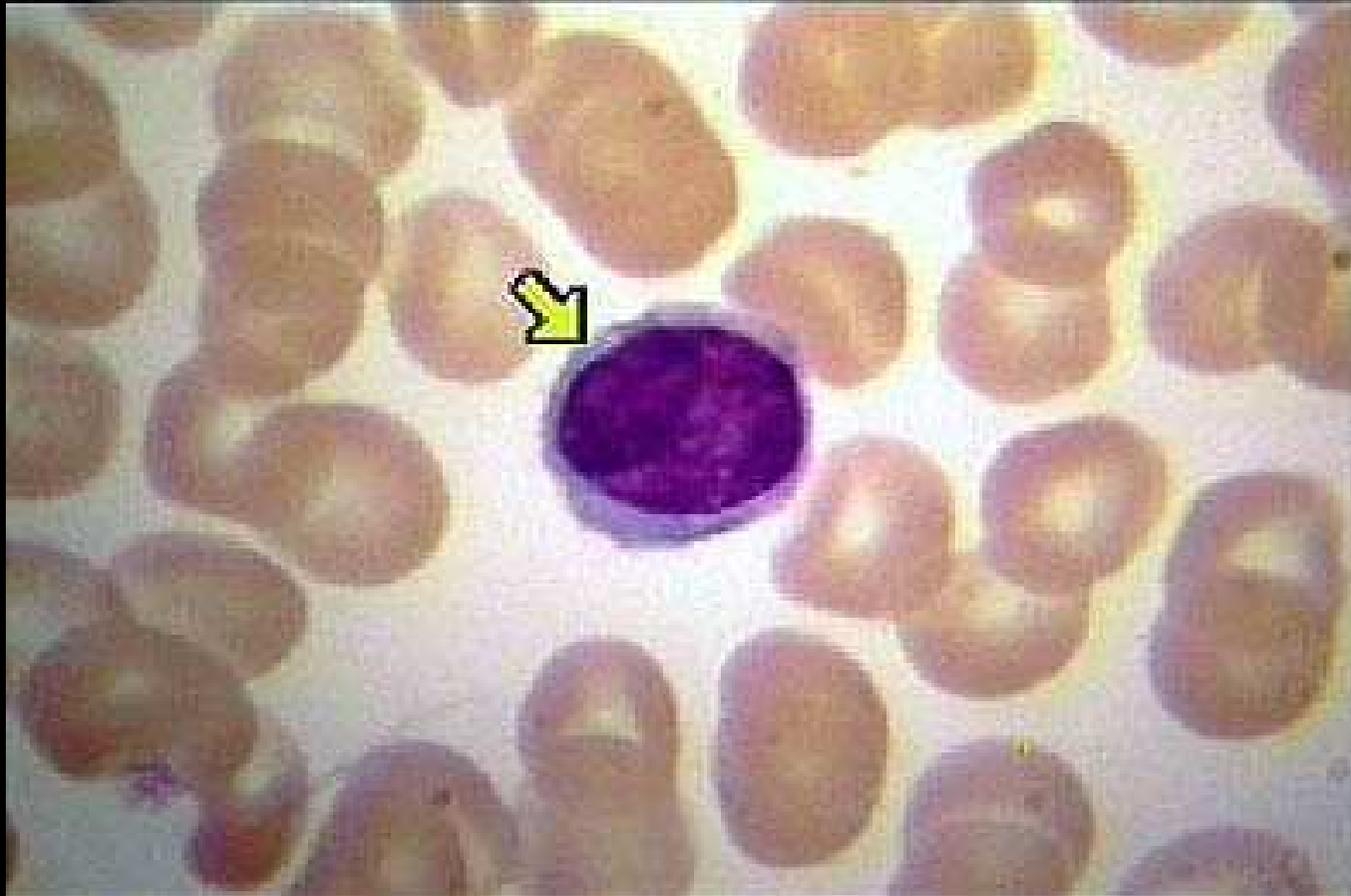


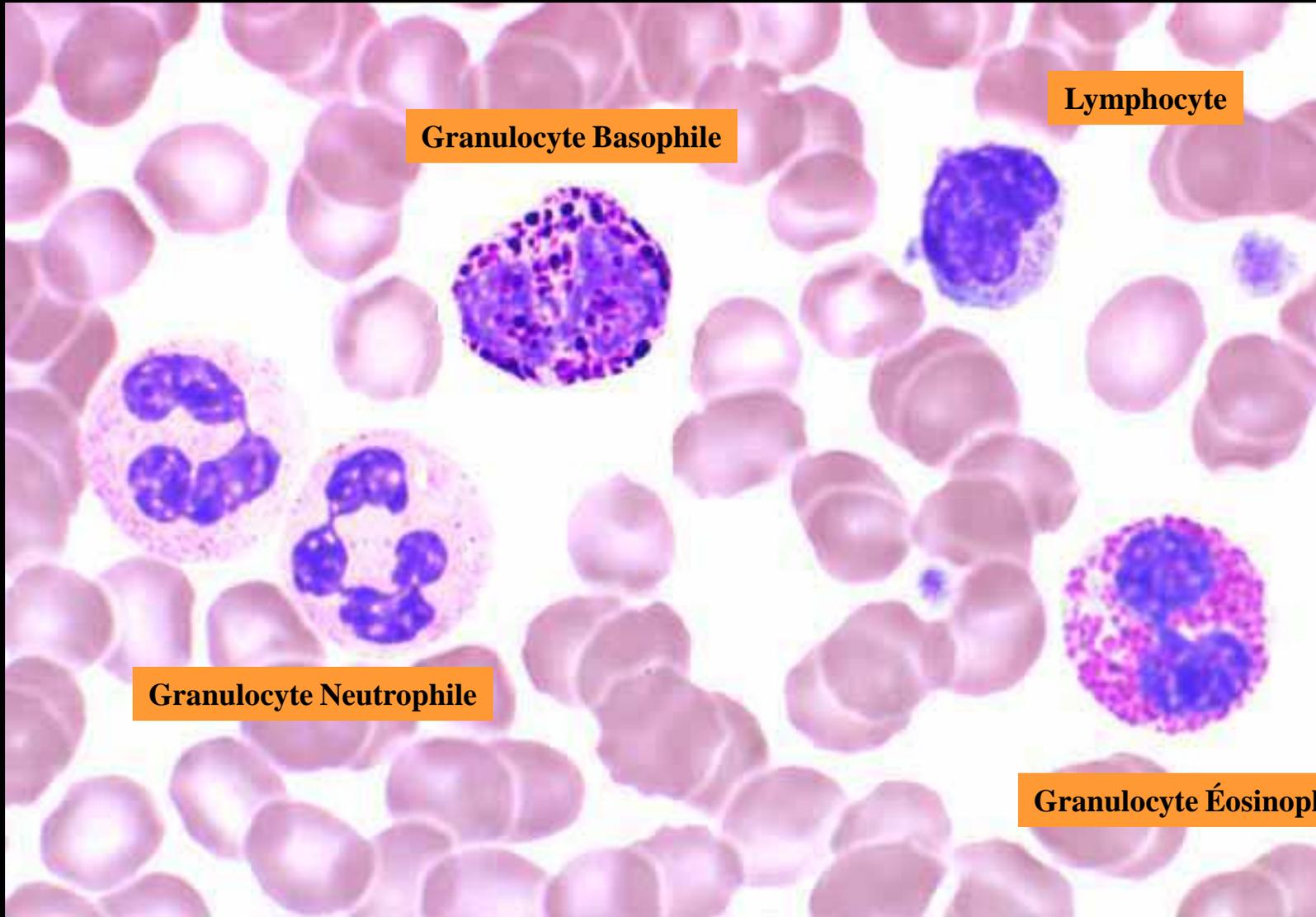
G. Basophile

Monocytes



Lymphocytes





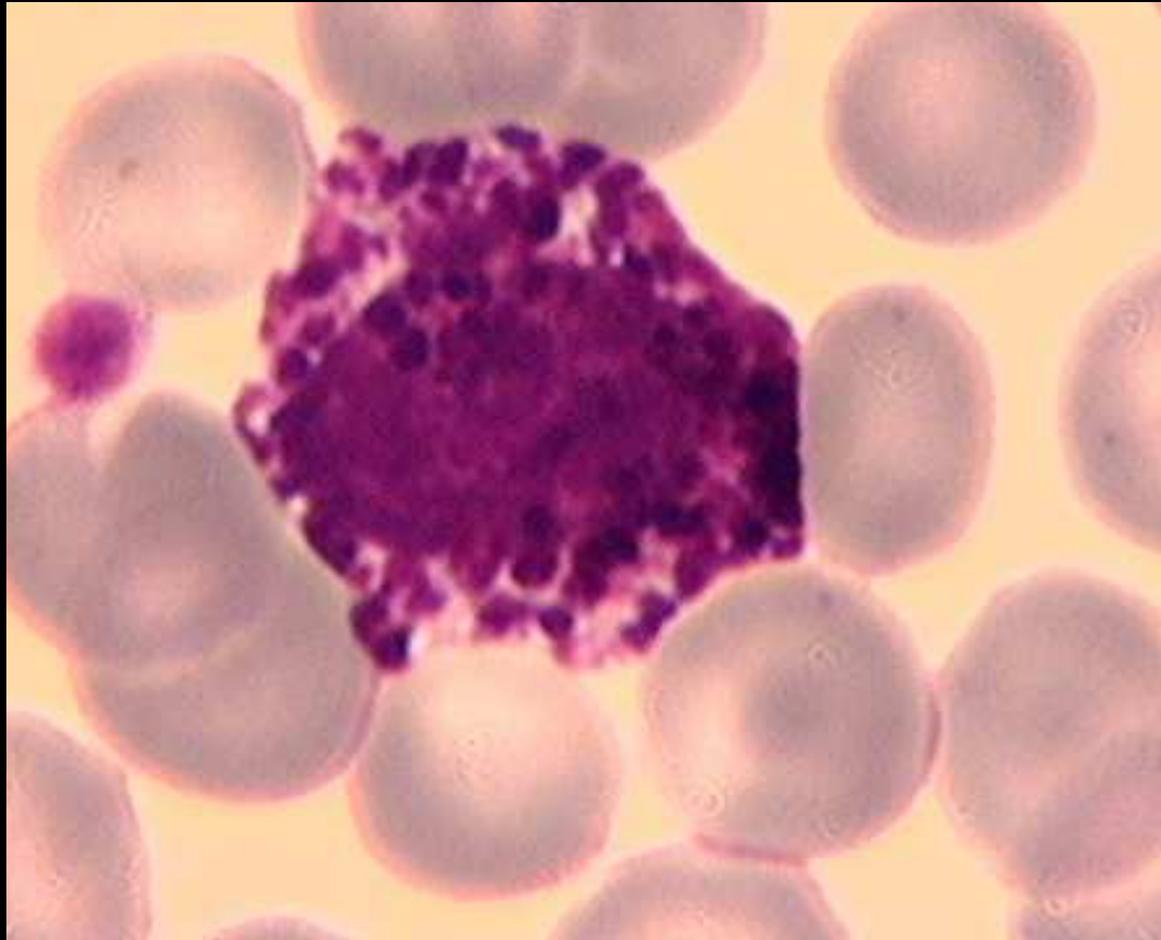
Lymphocyte

Granulocyte Basophile

Granulocyte Neutrophile

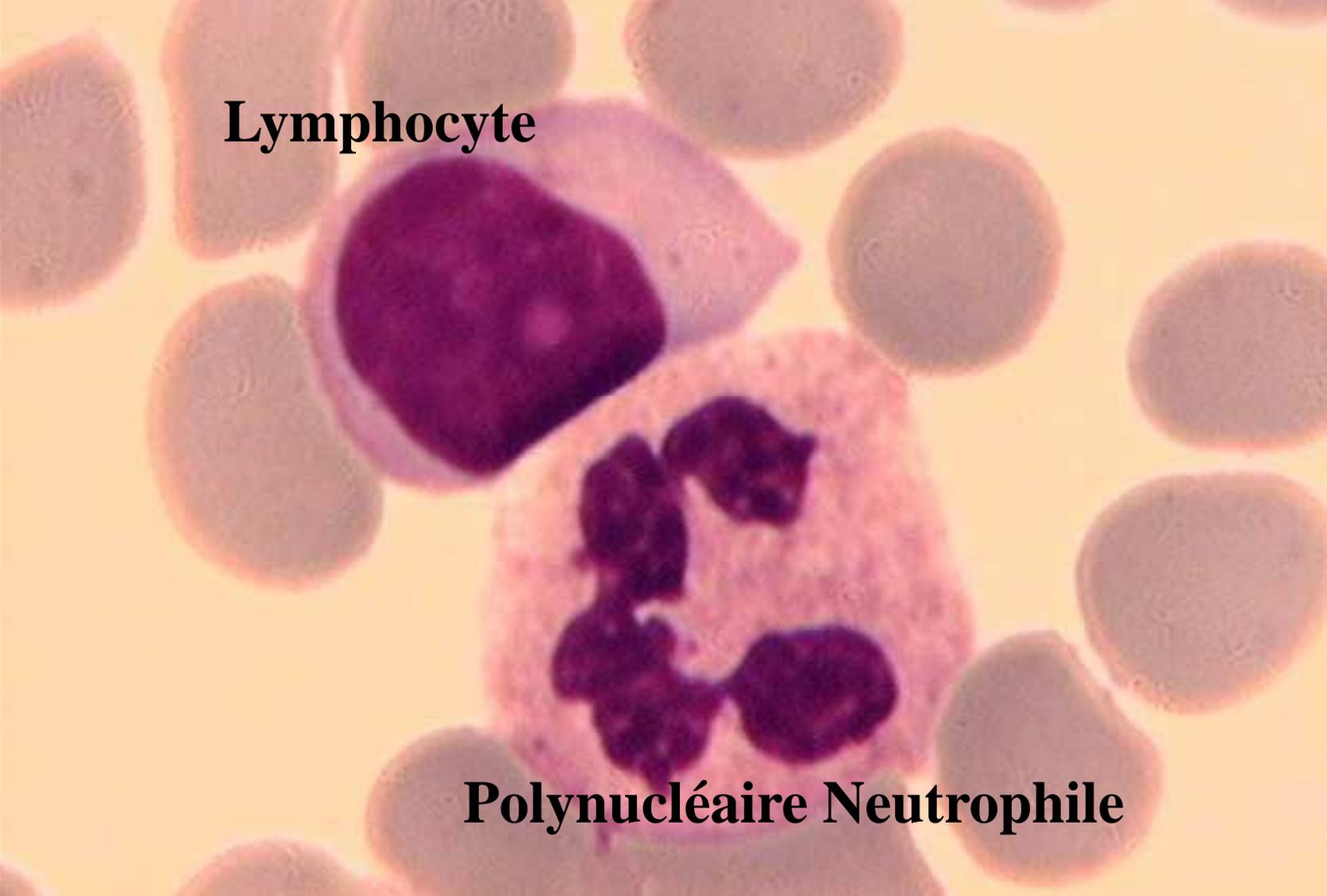
Granulocyte Éosinophile

Polynucléaires Basophiles



Polynucléaire Éosinophile





Lymphocyte

A microscopic image of a blood smear. The background is a light orange-yellow color. In the center, there is a large, pale pinkish-purple cell with a large, dark purple nucleus. To its right and slightly below, there is a cell with a multi-lobed, dark purple nucleus. Several other smaller, pale pinkish-purple cells are scattered around the central cells.

Polynucléaire Neutrophile

Monocyte

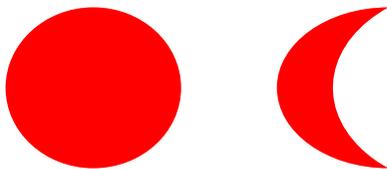


LE FROTTIS SANGUIN

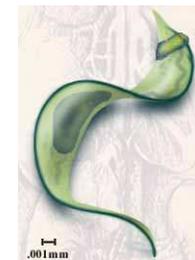
permet



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



La recherche de
certains parasites du
sang



1) Caractéristiques morphologiques des cellules sanguines révélées par un frottis



ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES HEMATIES





forme typique

anomalies de forme



echinocytes



elliptocytes



poikilocytes



schizocytes



drépanocytes



dacryocytes

anomalies de couleur



double population



hypochromie



polychromatophilie



sphérocytes

inclusions



corps de Jolly



parasitoses



ponctuations
basophiles

anomalies de taille



anisocytose



macrocytes



microcytes

anomalies de membrane



rouleaux



hemoglobinoses C



stomatocytes



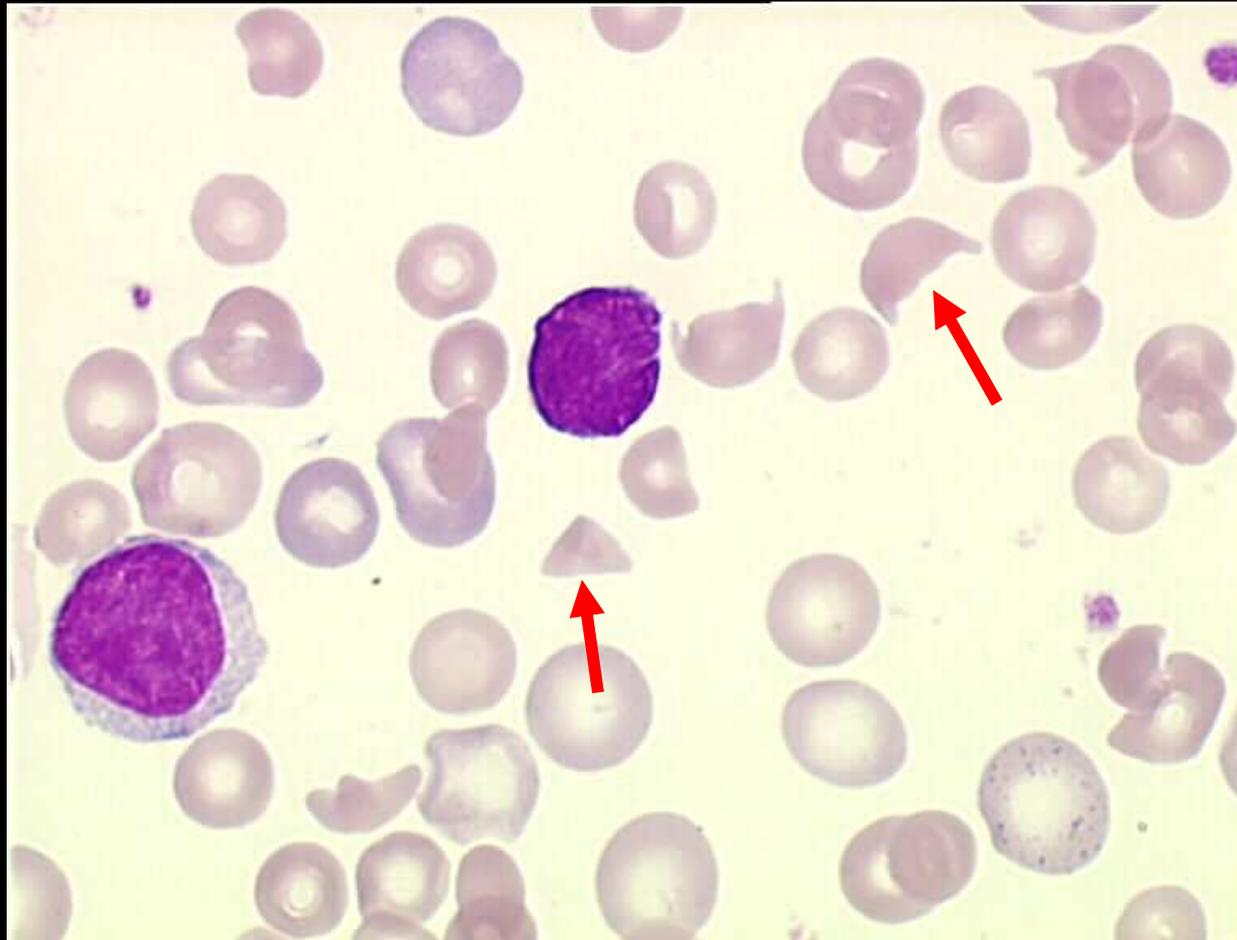
hématies cibles



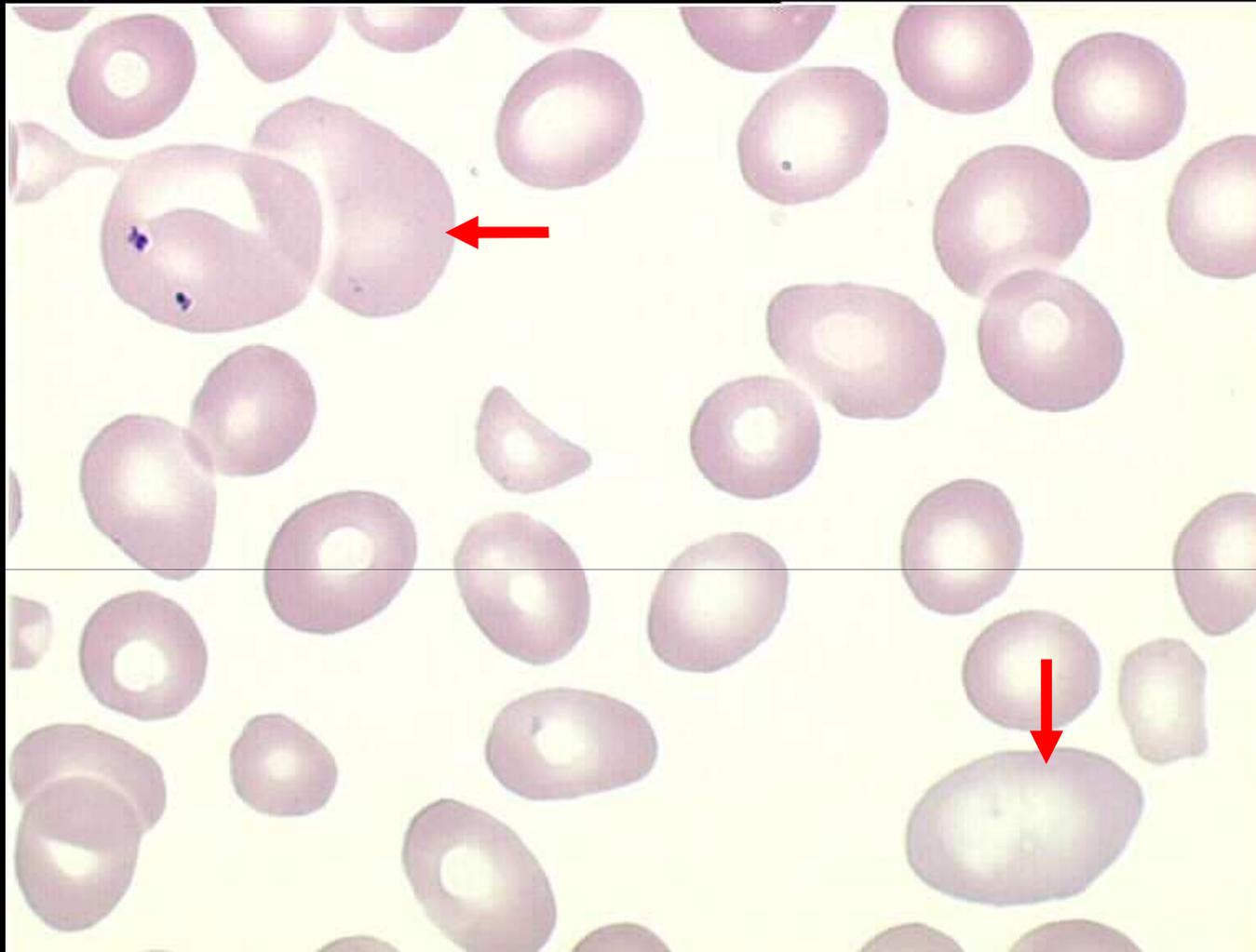
Retenir un exemple de chaque



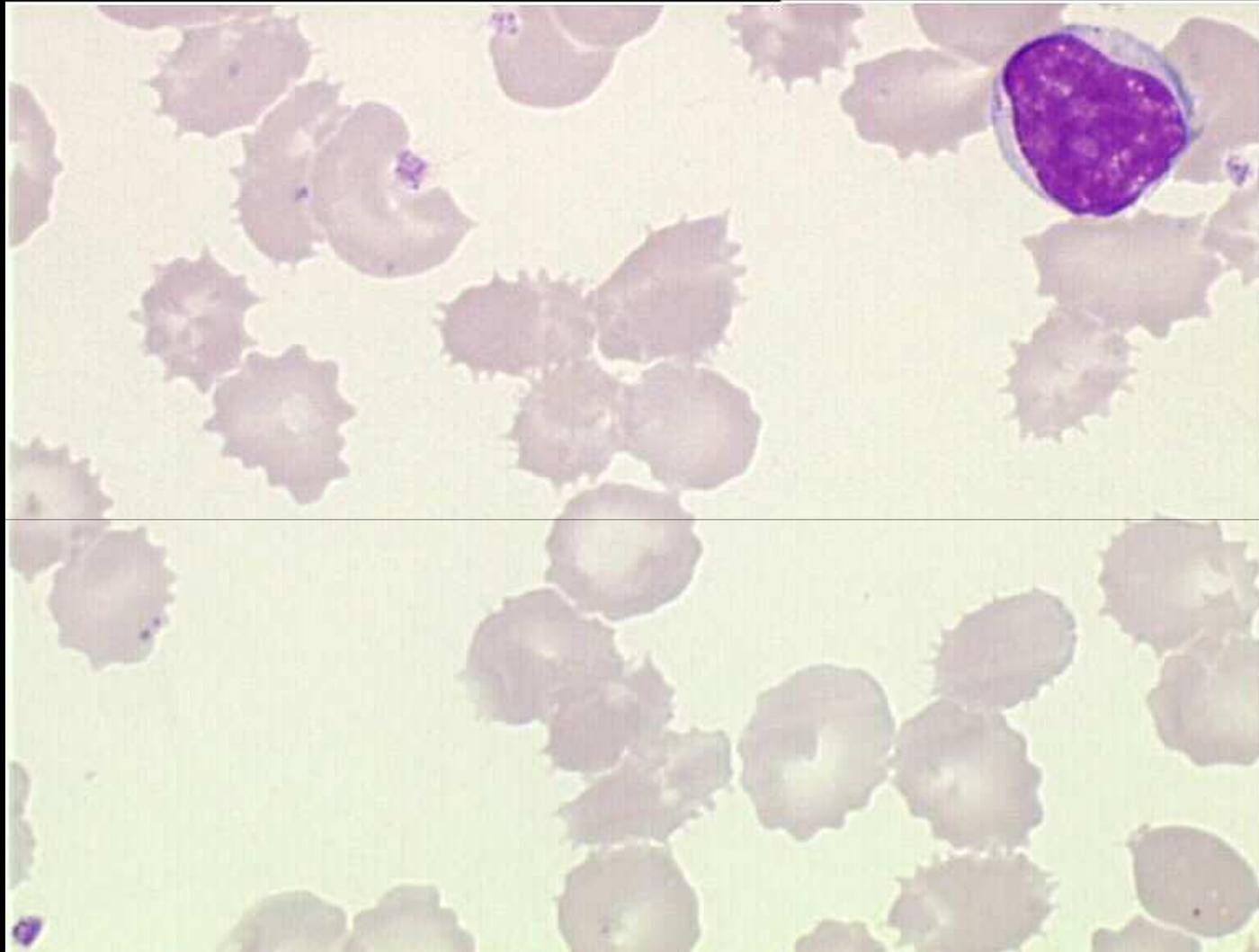
Hématies falciformes ou drépanocytes,
caractéristiques de la Drépanocytose
(anémie falciforme)



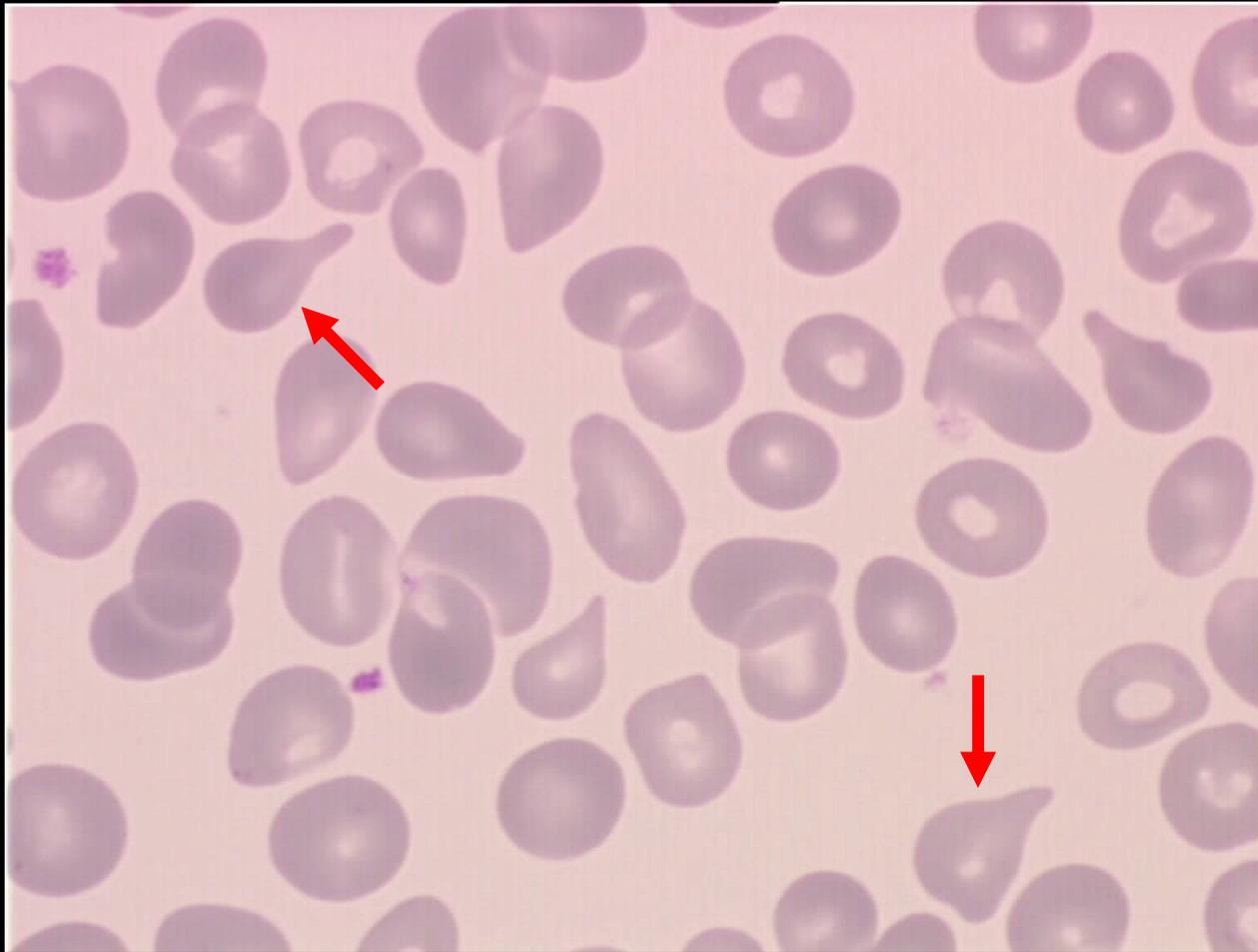
Présence de **schizocytes**
(métastase médullaire, brûlure grave, anémie
carentielle...)



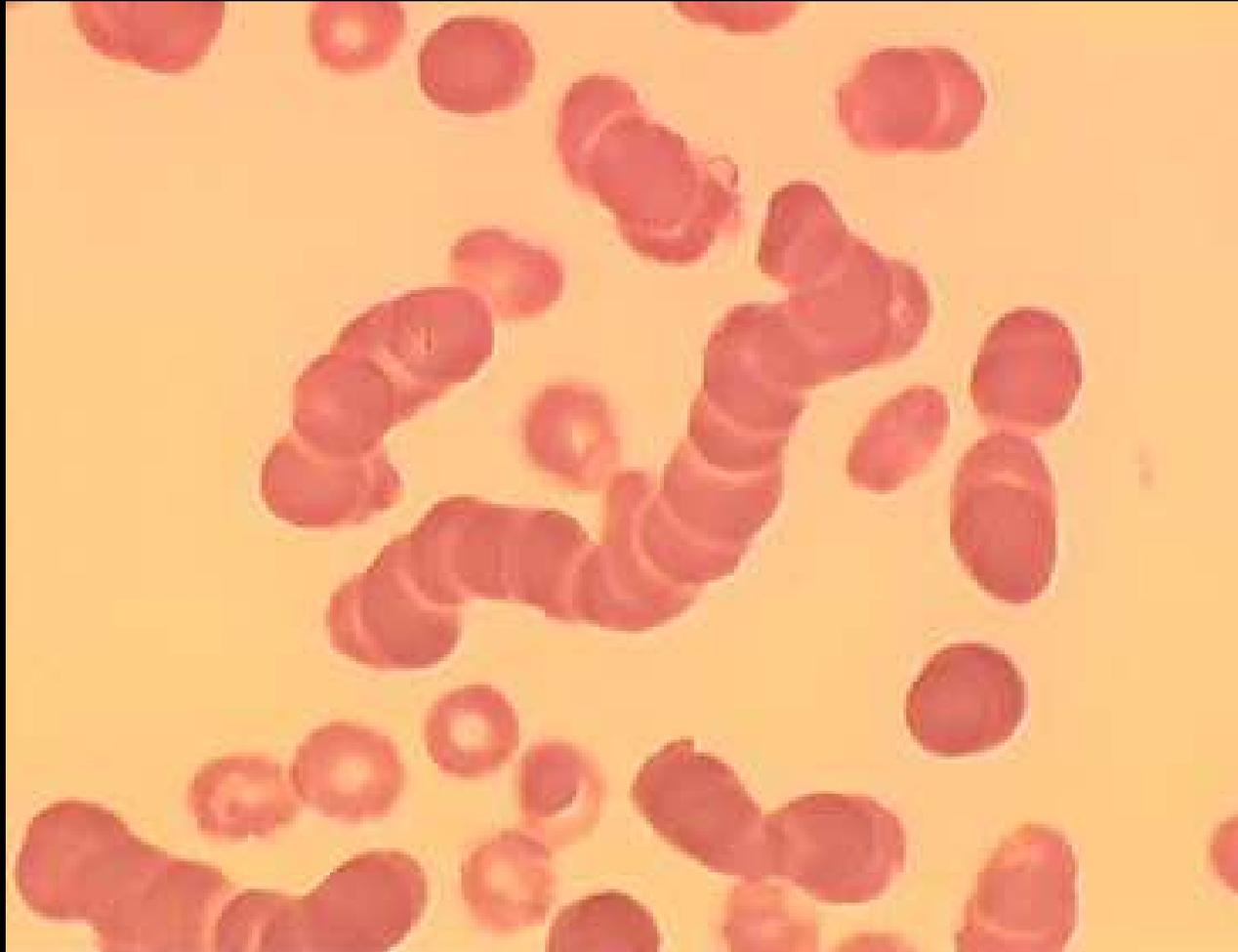
Présence de **macrocytes** pouvant révéler une
carence en **B12** ou **folates**



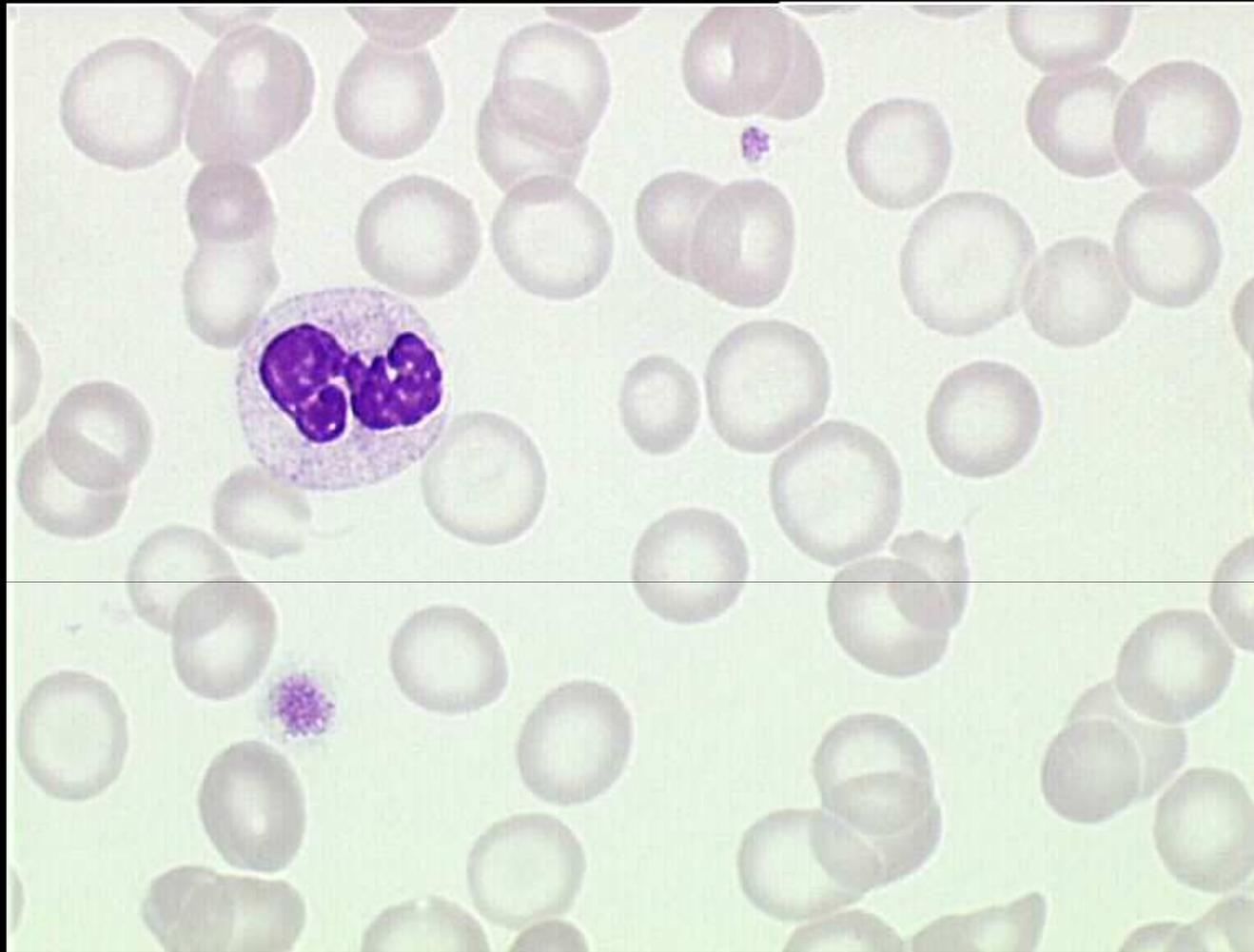
Présence d'échinocytes pouvant révéler une
insuffisance rénale



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



Hématies en rouleaux pouvant révéler une inflammation ou un Myélome



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



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

2) Exemples de parasitoses révélées par un frottis



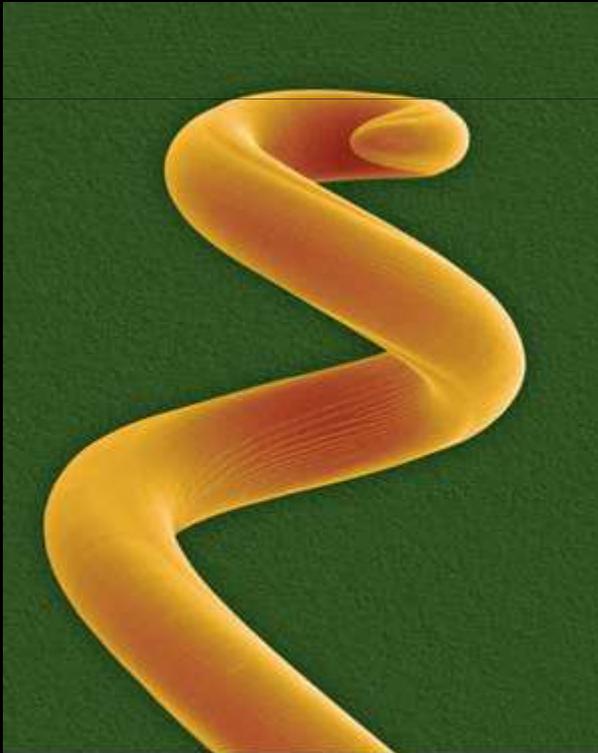


Nématodes



Protozoaires

Les Micro filaires (Vers nématodes)



Parasites extra-érythrocytaires

Wuchereria bancrofti

Brugia malayi



Filariose lymphatique (éléphantiasis)

140 millions de personnes infectées dans le monde



Wuchereria bancrofti

Filariose de Bancroft

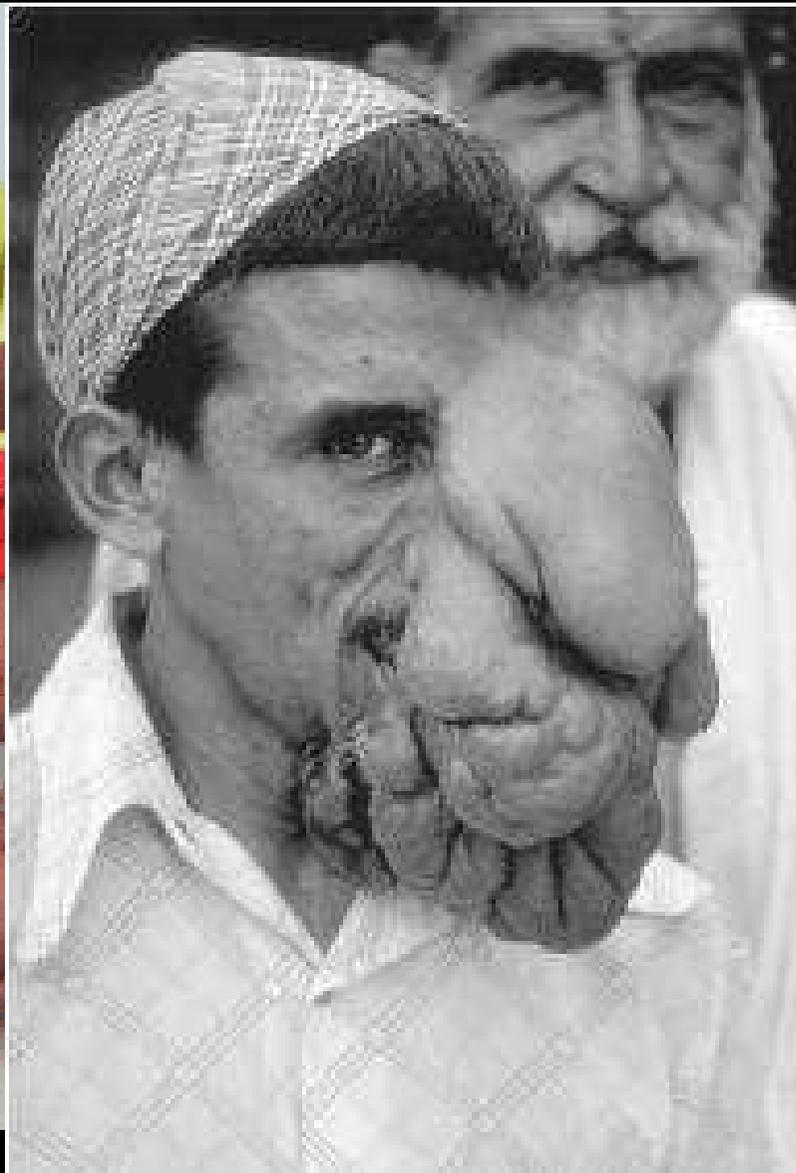


Brugia malayi

Filariose de Brugia

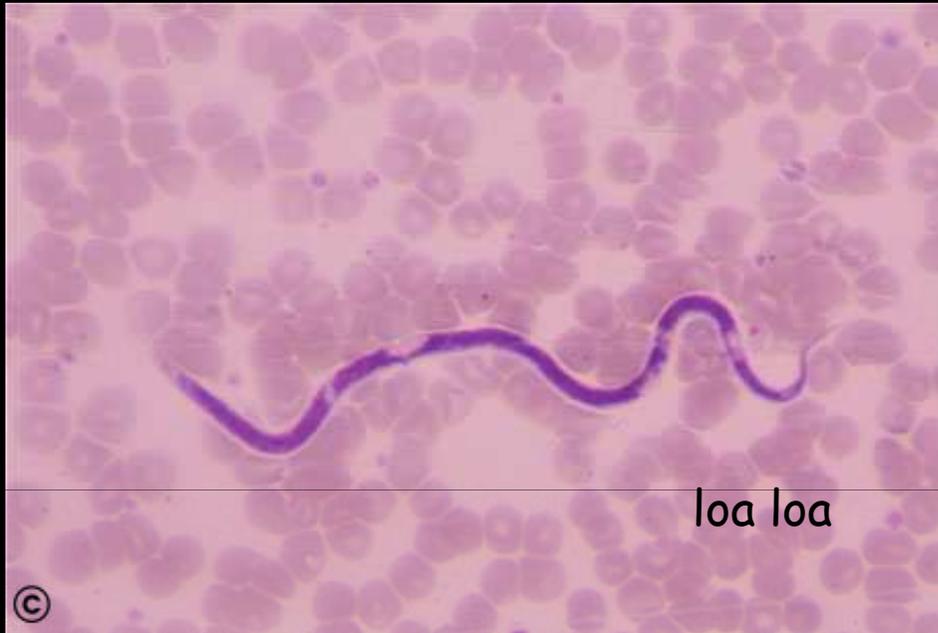
Transmission par piqûre de moustique

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



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

Loase



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

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



Les Protozoaires

Parasites



Intra-érythrocytaires



Extra-érythrocytaires

Plasmodium



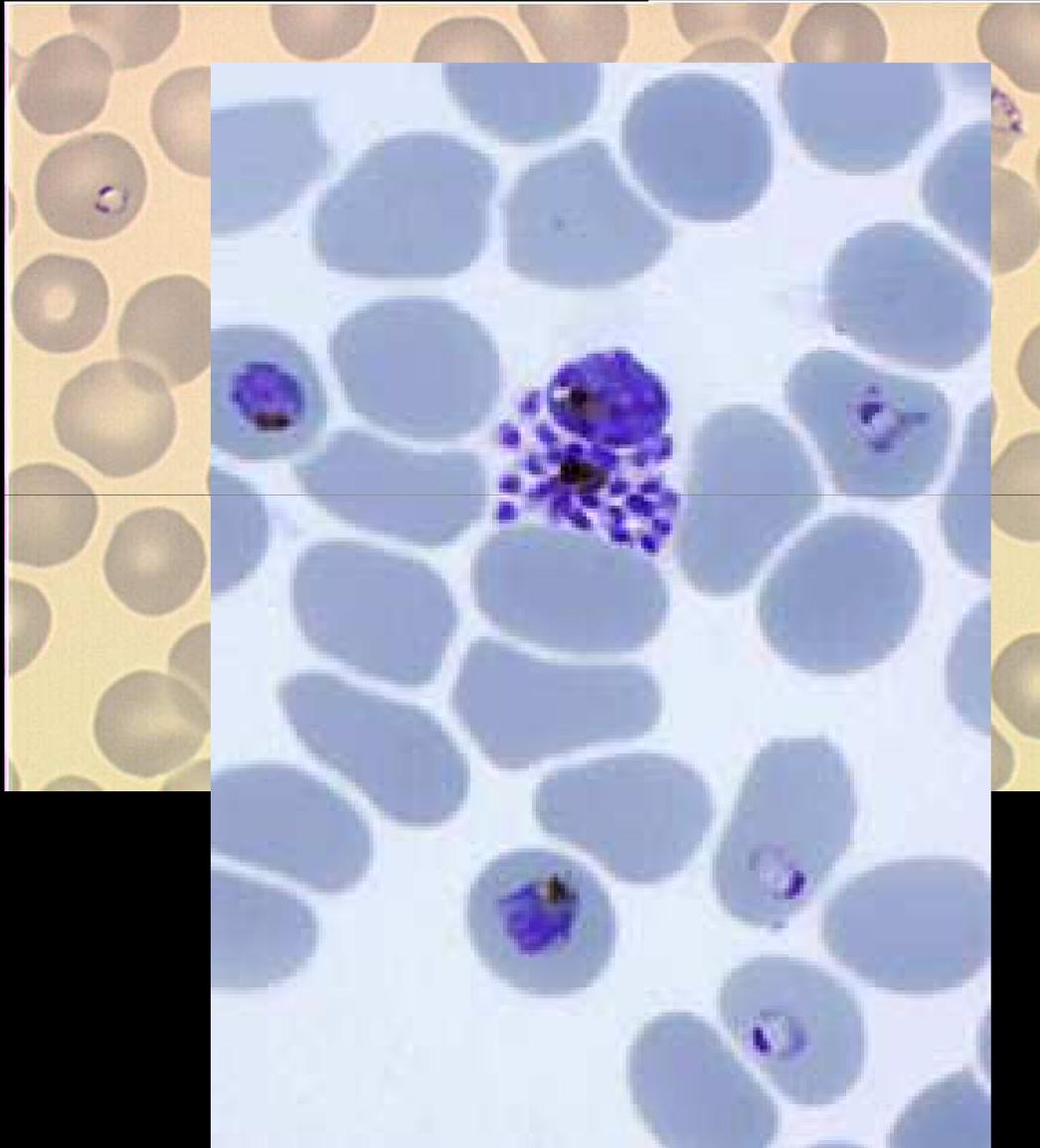
Paludisme (malaria)



plasmodium

5 espèces pathogènes pour
l'homme

Infecte les globules rouges
(multiplication
des mérozoïtes = asexuée)

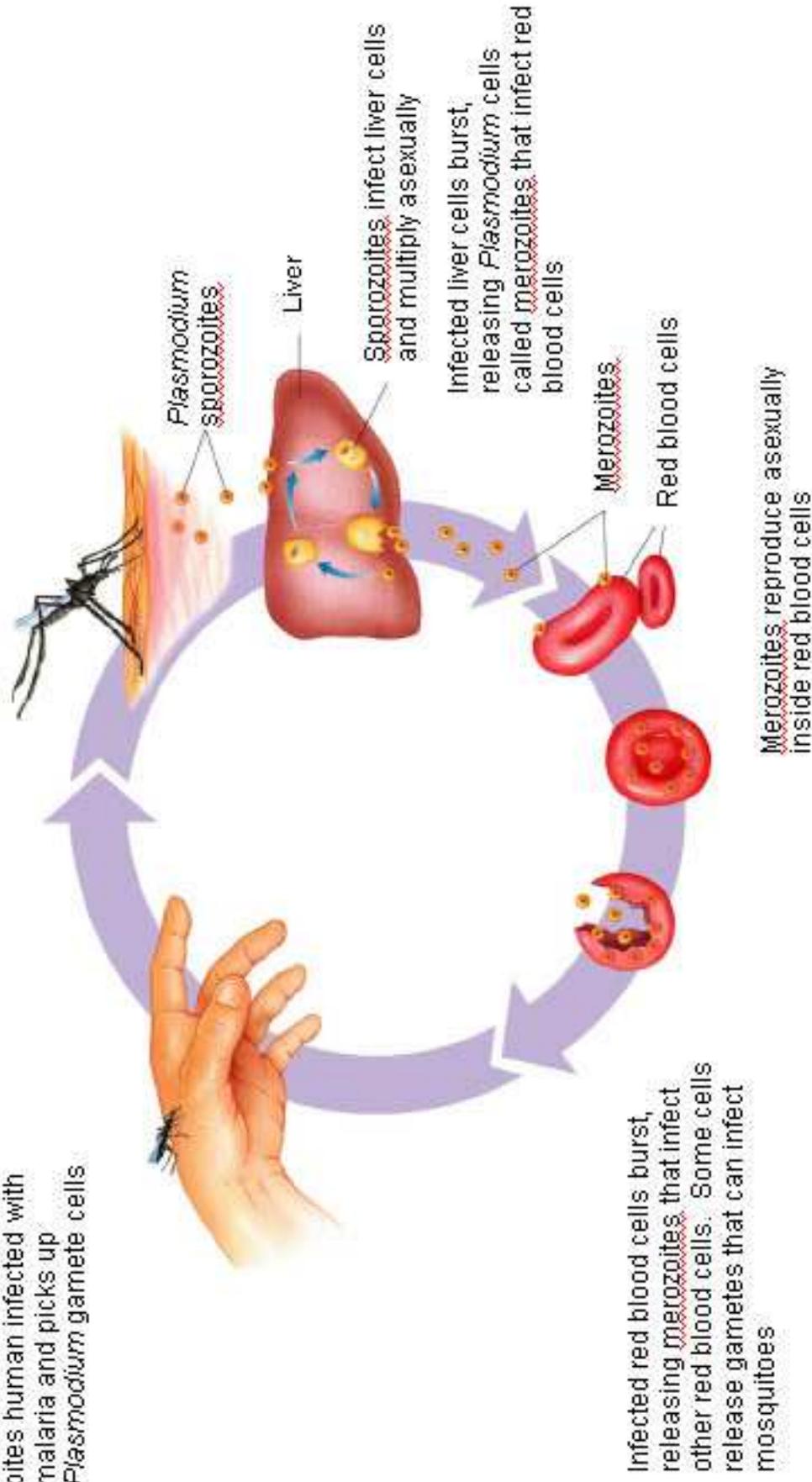




Sexual phase of *Plasmodium* life cycle takes place inside mosquito — gametes fuse to form zygotes, meiosis takes place, *sporozoites* are produced and migrate to salivary gland

Female *Anopheles* mosquito bites human infected with malaria and picks up *Plasmodium* gamete cells

Infected mosquito bites another human, injecting saliva that contains *Plasmodium sporozoites*



Infected red blood cells burst, releasing *merozoites* that infect other red blood cells. Some cells release gametes that can infect mosquitoes

Merozoites reproduce asexually inside red blood cells

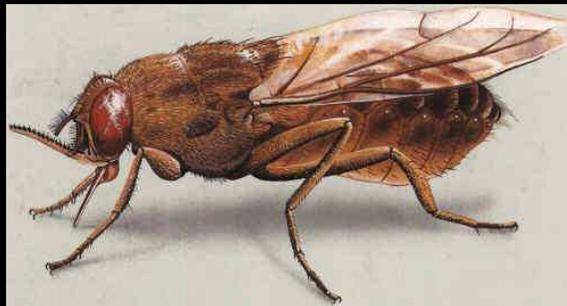
Trypanosoma



Maladie du sommeil (trypanosomiase)



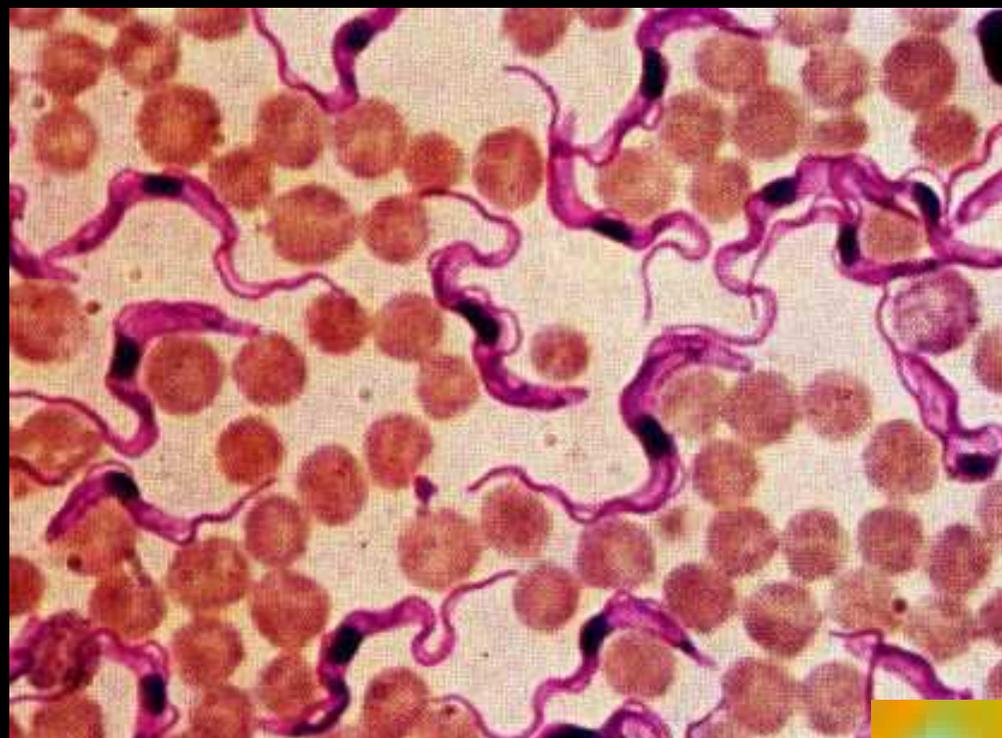
trypanosome



Mouche tsé tsé (glossina)

Trypanosoma



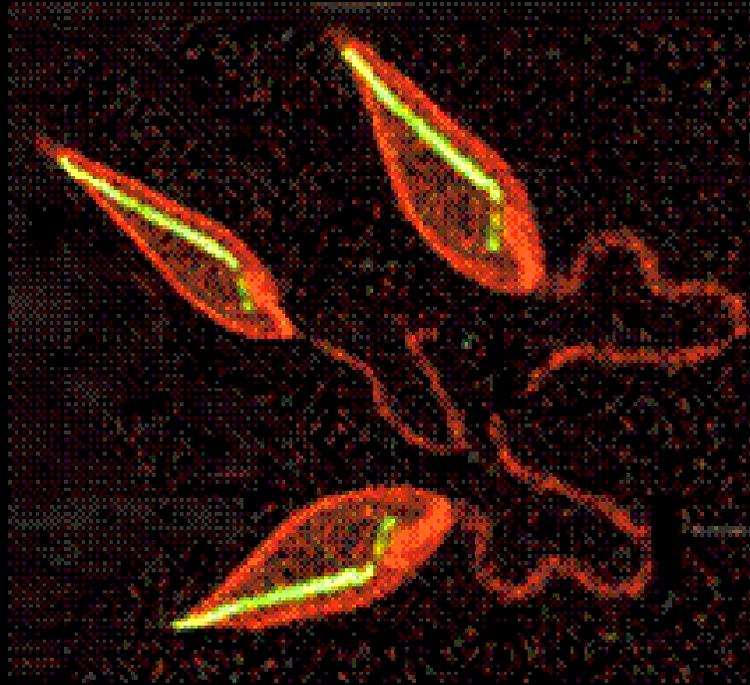


**60 millions de personnes
dans le monde (afrique)**

Mortelle si non traitée

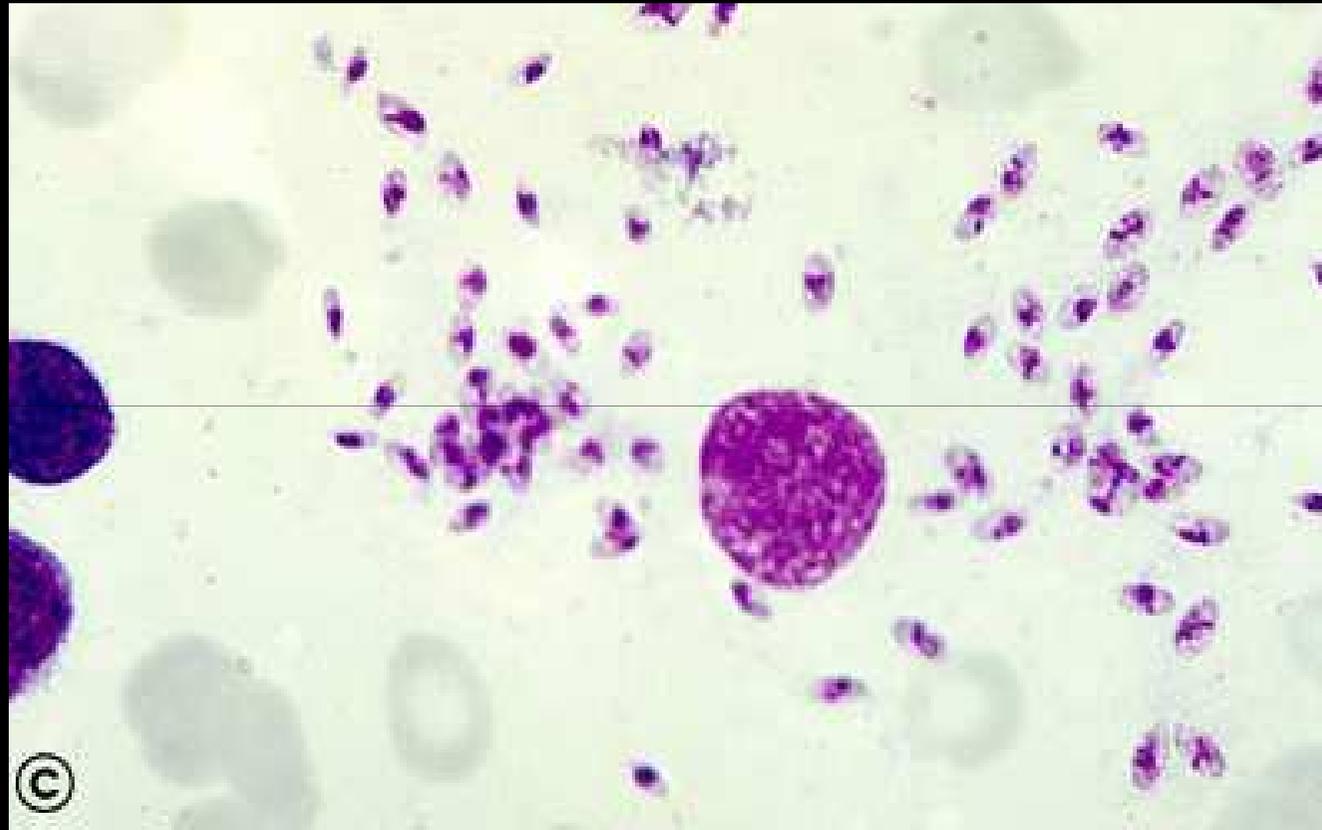


Leishmania



(Trypanosome)

Cas particulier Leishmaniose



Infecte les macrophages



Leishmaniose v



Leishmaniose
cutanée

co-cutanée

**Sévit au Maroc
(Rif, Zagora...)**

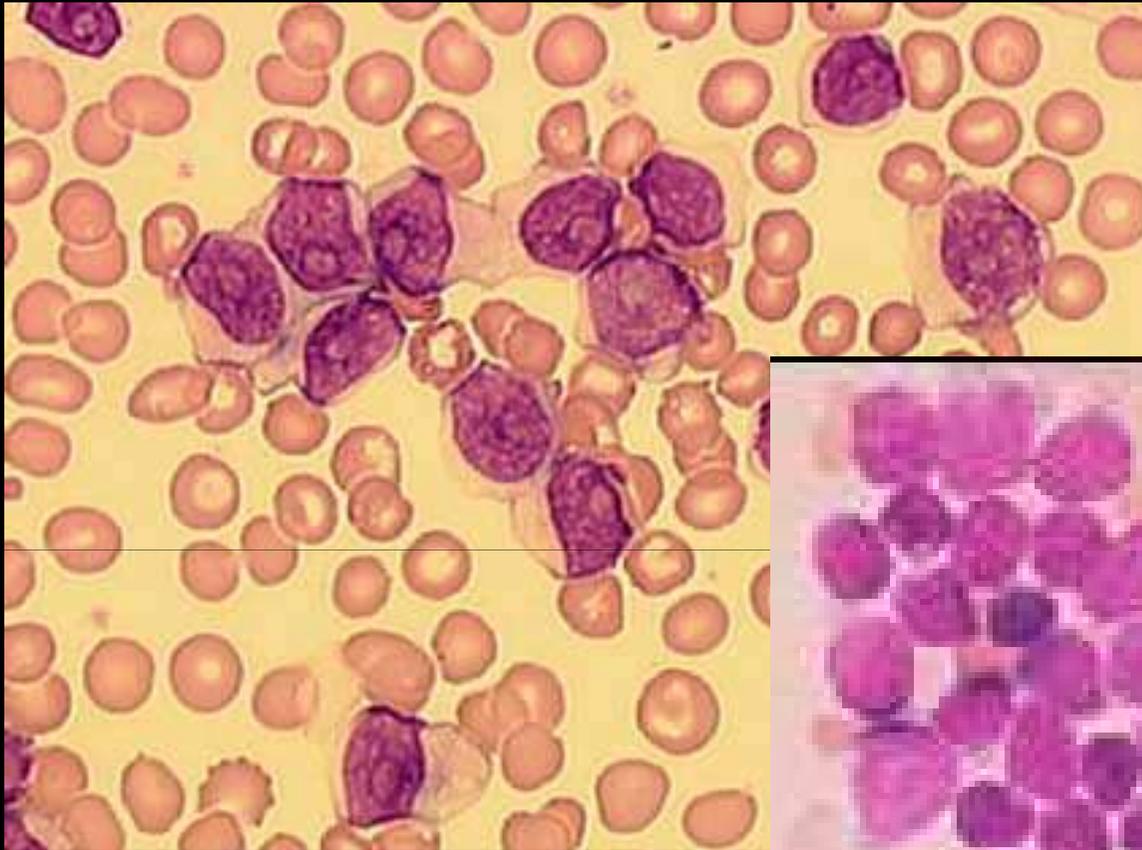


**3) Autres exemples de
maladies révélées par un
frottis**

Anémie falciforme (thalassémie)



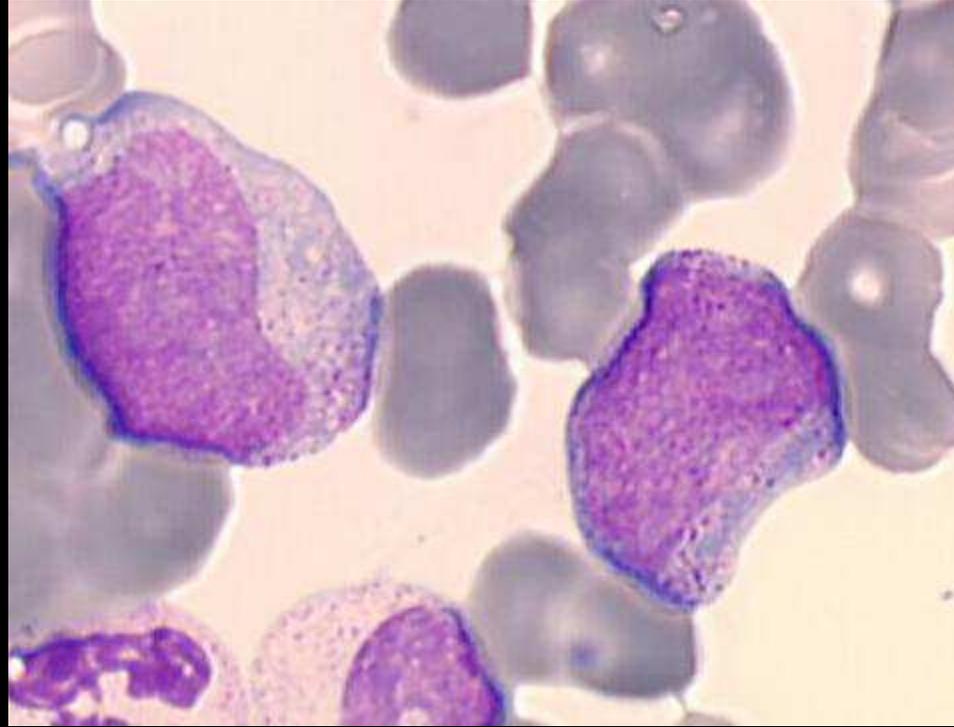
Cancers



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



Neutrophilie dans le cas d'une **leucémie myéloïde**



Présence de nombreuses cellules immatures dans
le sang (myéloblastes)

Leucémie

LES AUTRES ANALYSES



Vitesse de Sédimentation

Définition : Temps nécessaire aux globules rouges de se déposer librement dans un tube en présence d'un anticoagulant.

Valeur : Exprimée par mesure de la hauteur de plasma sédimentée dans le tube.
<7 mm en 1 heure
<20 mm en 2 heures



Variations : de façon générale cette vitesse augmente dans toutes les maladies infectieuses et inflammatoires

(Quand il y a un processus inflammatoire, la haute teneur en fibrinogène et protides inflammatoires du sang fait que les globules rouges se collent ensemble en rouleaux qui sédimentent plus vite)

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

Bilan de la coagulation

1) Numération plaquettes :

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

Valeur normale : 30 à 39 secondes

Diminution : inflammation Augmentation : troubles de la coagulation

3) Taux de prothrombine ou Temps de Quick :

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

4) Temps de saignement ou Temps de Duke :

Valeur normale : 2 à 4 minutes

5) Taux de fibrinogène :

Valeur normale : 2 à 4 g

6) INR (International Normalised Ratio) :

Baisse du taux de prothrombine = augmentation de l'INR

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

Taux de prothrombine et INR

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

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