



كلية الطب  
والصيدلة - مراكش  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2020

Thèse N°049

# Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

---

## THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 11/03/2020

PAR

**Mlle. Ichrak HARMOUCHI**

Née le 18 avril 1993 à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

---

## MOTS-CLES :

Hémogramme automatisé – Automate d'hématologie – Alarmes- Performance  
Sensibilité – Spécificité

---

## JURY

**Mme. S. CHELLAK**

Professeur de Biochimie-chimie

PRESIDENTE

**M. M. CHAKOUR**

Professeur d'Hématologie Biologique

RAPPORTEUR

**M. M. ZYANI**

Professeur de Médecine interne

**M. M. AIT AMEUR**

Professeur d'Hématologie Biologique

JUGES

**M. EM. EL MEZOUARI**

Professeur agrégé de Parasitologie-Mycologie

## سُورَةُ الْعَلَقِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ① خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ ② أَقْرَأْ وَرَبُّكَ  
الْأَكْرَمُ ③ الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ④ عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ⑤ كَلَّا إِنَّ  
الْإِنْسَانَ لِرَبِّهِ لَكَنَاجِفٌ ⑥ أَن رَّاهُ اسْتَعْجَلَ ⑦ إِنَّ إِلَىٰ رَبِّكَ الرُّجْعَىٰ ⑧ أَرَأَيْتَ  
الَّذِي يَنْهَىٰ ⑨ عَبْدًا إِذَا صَلَّىٰ ⑩ أَرَأَيْتَ إِنْ كَانَ عَلَى الْهُدَىٰ ⑪ أَوْ أَمَرَ  
بِالتَّقْوَىٰ ⑫ أَرَأَيْتَ إِنْ كَذَّبَ وَتَوَلَّىٰ ⑬ أَلَمْ يَعْلَم بِأَنَّ اللَّهَ يَرَىٰ ⑭ كَلَّا لَئِنْ لَمْ يَنْتَهِ  
لِنَسْفَعَنَّ بِالنَّاصِيَةِ ⑮ نَاصِيَةٍ كَذِبَةٍ خَاطِئَةٍ ⑯ فليدع ناديه ⑰ سَنَدَعُ  
الزَّبَانِيَةَ ⑱ كَلَّا لَا تَطِعُهُ وَاسْجُدْ وَاقْتَرِبْ ⑳

# Serment d'Hippocrate

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

*Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*

*Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*

*Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*

*Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*

*Les médecins seront mes frères.*

*Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*



*Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.*

*Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*

*Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

**Déclaration Genève, 1948**



*LISTE DES PROFESSEURS*



**UNIVERSITE CADI AYYAD**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**  
**MARRAKECH**

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

**ADMINISTRATION**

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

**Professeurs de l'enseignement supérieur**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Spécialité</b>	<b>Nom et Prénom</b>	<b>Spécialité</b>
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie-réanimation	FINECH Benasser	Chirurgie – générale
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation

AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire périphérique	KISSANI Najib	Neurologie
AMAL Said	Dermatologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato-orthopédie
AMINE Mohamed	Epidémiologie-clinique	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie-obstétrique	LOUHAB Nisrine	Neurologie
ASRI Fatima	Psychiatrie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie – générale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino-laryngologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NEJMI Hicham	Anesthésie-réanimation

BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURRAHOUCAT Aicha	Pédiatrie	NOURI Hassan	Oto rhino laryngologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOUSS Youssef	Anesthésie-réanimation
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADA Nouredine	Pédiatrie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie-réanimation	SAIDI Halim	Traumato-orthopédie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie-réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SORAA Nabila	Microbiologie – Virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie-clinique
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	YOUNOUS Said	Anesthésie-réanimation
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie – virologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADI Amra	Anesthésie – réanimation
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie

ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	ZYANI Mohammed	Médecine interne
FADILI Wafaa	Néphrologie		

### Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie Cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
AISSAOUI Younes	Anesthésie réanimation	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJ Soumaya	Radiologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
ATMANE El Mehdi	Radiologie	MARGAD Omar	Traumatologie – orthopédie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BELBACHIR Anass	Anatomie-pathologique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino – Laryngologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	NADER Youssef	Traumatologie – orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RBAIBI Aziz	Cardiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino Laryngologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie – Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardiovasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie – Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique

EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
FAKHRI Anass	Histologie- embryologie cytogénétique	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
GHAZI Mirieme	Rhumatologie		

### Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	ELOATNI Mohamed	Médecine interne
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bioorganique
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
AMINE Abdellah	Cardiologie	GHOZLANI Imad	Rhumatologie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	HAJJI Fouad	Urologie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	Hammoune Nabil	Radiologie
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie - Réanimation	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELLASRI Salah	Radiologie	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale

BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie – Virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie orthopédie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NYA Fouad	Chirurgie Cardio Vasculaire
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
DAMI Abdallah	Médecine Légale	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie- patologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio- organique	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	TAMZAOURTE Mouna	Gastro – entérologie
EL HAMZAOUI Hamza	Anesthésie réanimation	WARDA Karima	Microbiologie
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire

**LISTE ARRÊTÉE LE 24/09/2019**



# *DÉDICACES*



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la  
reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que :*



*Je dédie cette Thèse...*

*TOU D'ABORD A*



*Au bon dieu Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé  
dans le bon chemin Je vous dois ce que je suis devenue  
Louanges et remerciements Pour votre clémence et  
miséricorde.*

الحمد لله حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه ملء السموات وملء الأرض وملء ما بينهما

*Au Prophète Mohammed (P.S.L.)*

*Notre guide et notre exemple bien-aimé. Qu'il nous oriente  
dans le droit chemin.*

*A mes très chers parents*

*A qui je dois tout, puisse ALLAH vous garder toujours à mes côtés en bonne et parfaite santé...*

*A mon idole : ma chère Maman Khadija EL FENNI*

*Une femme merveilleuse, patiente, attentionnée, bienveillante et indulgente. La plus gentille des mamans. La source de tendresse et l'exemple du dévouement.*

*A l'indispensable compagne, confidente, complice, éducatrice et collaboratrice que tu réussis à être chaque jour, sans toi je serai ruinée, tu es tout pour moi et je t'aime éperdument, tu es la femme de ma vie, t'es ma force, mon courage.*

*Je te remercie pour tous les sacrifices que tu fais depuis ma naissance. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études, J'espère rester toujours digne de ton estime.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour, Puisse dieu tout puissant te préserver du mal, te combler de santé, de bonheur et t'accorder une longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.*

*Amen*

*Une grande dame, je t'aime.*

*Mon cher Papa : Mohammed HARMOUCHI*

*Avec toi, j'ai appris tout ce qu'il me faut pour y arriver à ce stade : la discipline, l'honnêteté, et beaucoup de valeurs qu'il me faut un ouvrage pour les citer. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer la profonde gratitude que je te témoigne pour tes sacrifices le long de ces années.*

*Tu as toujours cru en moi, Tu es été un papa très disponible et très à l'écoute, Tu m'as appris tant de choses.*

*Tu es le meilleur des amoureux, tu as tout fait pour moi, me soutenir, me tirer vers le haut, me protéger.*

*Ce modeste travail, n'est que la consécration de tes grands efforts et tes immenses sacrifices. Puisse ALLAH tout puissant te préserver du mal, te combler de santé.*

*Amen*

*Un grand homme, je t'aime.*

*A ma chère grand-mère Fatna*

*Je remercie Dieu qui te garde reine sur notre grande famille.*

*Je te remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que tu me portes depuis mon enfance. Que Dieu te garde et te procure santé et bonheur éternel.*

### *A ma chère Ghízlane*

*Je suis très heureuse de pouvoir vous présenter par ce travail le témoignage de mon profond amour et les liens de fraternité qui nous unissent. Je vous souhaite une vie pleine de joie et réussite.*

### *A ma chère Omaíma*

*Ton amour m'a aidé à avancer en toutes circonstances. Avec toi, j'ai appris à sourire, à partager, j'ai appris à donner et à recevoir, j'ai appris que la vie vaut la peine d'être vécue, Je te remercie de tout mon cœur, te remercie de ta présence, de ta gentillesse de ta compréhension, de tes conseils. Ce que tu as fait dans ma vie n'a pas de prix, je ne pourrais jamais te le payer, Merci, à toi ma sœur que j'aime et je porte dans mon cœur.*

*Ton soutien et ton affectation m'ont beaucoup aidé au cours de mes études. A notre fraternité qui m'est très chère. Je te souhaite tout le Bonheur du monde, puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé longue vie.*

*A mon très cher Mouatassim billah*

*En fin je réalise un de tes rêves, grâce à tes encouragements je suis  
là ce jour*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon grand amour pour toi.  
Tu es le frère, le père, l'ami et le confident, Mon ange gardien et  
mon fidèle compagnant dans les moments les plus délicats de cette  
vie.*

*Tu étais toujours là pour me soutenir et pour m'éclairer la route.  
Ces quelques lignes ne sauraient traduire le profond amour que je te  
porte.*

*Que Dieu te protège, t'accorde santé, succès et plein de bonheur  
dans ta vie.*

*La mémoire de ma grande mère Rokaya et mes grand-  
pères, mon oncle Abdellah et ma tante Hnia  
Puissent vos âmes reposer en paix, Que Dieu, le tout puissant, vous  
couvre de sa Sainte miséricorde.*

*A Mes Chères Tantes, Leurs Epoux ;*

*A Mes Chers Oncles, Leurs Epouses*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect  
et la reconnaissance sincère que j'ai pour vous. Que ce travail soit  
un témoignage de mon affection, je vous le dédie pour tous les  
moments que nous avons passés ensemble. Je prie Dieu le tout  
puissant de vous accorder santé, bonheur et succès.*

*A toutes mes cousines, leurs maris et enfants.  
Je vous dédie ce travail en témoignage de ma gratitude pour le  
joyau que vous m'avez offert. Qu'Allah vous protège.*

*A ma tante Zahra Bahous*

*Votre soutien, votre amour et vos encouragements et surtout votre  
complicité ont été pour moi d'un grand réconfort. Veuillez trouver  
dans ce travail, l'expression de mon amour et mon affection  
indéfectible. Qu'ALLAH vous protégé et vous accorde santé,  
Bonheur et prospérité.*

*A ma meilleure amie Salsabil Houach*

*Ma confidente, qui a toujours été présente pour moi, pour sa  
générosité, sa bonté, sa gentillesse et toutes ces belles choses qui la  
rendent spéciale et unique.*

*Nous avons traversé beaucoup de moments ensemble, les bons  
comme les plus difficiles. Merci Salsabil d'être ce que tu es, Merci  
d'être mon amie, Je te souhaite une vie pleine de bonheur et de  
réussite.*

*A mes chères amies Aabir Delmakí et Yosra Elhilali  
En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les  
moments que nous avons passé ensemble durant les 7 ans d'études,  
je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé,  
de bonheur, d'affection et d'amour.*

*A mes chères amies Ikram Hazzazi, Sara Iharchine,  
Loubna Idelkheir*

*Merci pour tous ces petits moments qui sont devenus inoubliables grâce à vous. Ce sont souvent des petits moments qui paraissent banals qui créent les meilleurs souvenirs. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*A mes amis Nassira El idrissi, Abdellah Oulfdil,  
Soufiane ait tilat, Abdelhakim Dahbi*

*Nos chemins se sont séparés certes, mais l'amitié demeurera présente à jamais. Que ce travail soit le témoignage des bons moments que nous avons passé ensemble.*

*A mes chères amies, Safae Chafi, Imane Salhi, Sara  
Kechnaoui, Fatim ezzahra Chakor, Chaïmae Derrazi,  
Lamia El fehmi*

*Merci d'avoir été là à tous les instants. Merci pour les heures de fous rires, de joie, de folie. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous a unis et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A tous mes amis, Marouane Refak, Mohammed Yassine, Rachid Tali, Younes Afares, Imad Iachich. Des personnes à qui je rends grâce pour leur don de solidarité, de générosité et de bonté et qui ne sont pas toujours conscientes de ce que signifient leurs actions pour les autres. Je vous suis profondément reconnaissante pour ce que vous avez fait pour moi. C'est bien grâce à votre soutien et vos ondes positives que j'ai pu me reprendre en main. Une chose est sûre : je ne l'oublierais jamais.*

*Merci.*

*A toute la famille Harmouchi, El fenni, Boussaid, Lamine, Rassidi, Serraoui*

*J'espère que vous trouverez ici le témoignage de tout mon amour et toute ma reconnaissance pour votre intarissable soutien.*

*A tous mes enseignants*

*De l'école primaire, collège, lycée et surtout ceux de la faculté de médecine de Marrakech.*

*A tous les ami(e)s, confrères et consœurs de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech*

*A tous les malades... Je leur souhaite prompt rétablissement*

*A tous ceux dont l'oubli de la plume n'est pas celui du cœur. A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*



# *REMERCIEMENTS*



**A notre maître et présidente de thèse**  
**Professeur CHELLAK Saliha**  
**Professeur de l'enseignement supérieur de Biochimie-Chimie**  
**Hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant aimablement la présidence de notre jury. Vos qualités professionnelles ainsi que votre bienveillance et votre simplicité nous servent d'exemple. Veuillez accepter dans ce travail l'expression du grand respect que nous vous témoignons.

**A notre maître et Rapporteur de thèse**  
**Professeur CHAKOUR Mohamed**  
**Professeur de l'enseignement supérieur d'Hématologie biologique**  
**Hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

C'est avec un grand plaisir que je me suis adressé à vous dans le but de bénéficier de votre encadrement et j'étais très touchée par l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de me confier ce travail.

Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil malgré vos obligations professionnelles. Je vous remercie infiniment, cher maître, pour avoir consacré à ce travail une partie de votre temps précieux et de m'avoir guidé avec rigueur et bienveillance. Je suis très fière d'avoir appris auprès de vous et j'espère avoir été à la hauteur de votre attente. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de mon estime et de mon profond respect.

**À notre maître et juge de thèse**  
**Professeur ZYANI Mohammed**  
**Professeur de l'enseignement supérieur de Médecine interne**  
**Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech**

Nous tenions à vous exprimer nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de siéger auprès de ce noble jury. Votre présence nous honore. Veuillez trouver ici, professeur, l'expression de notre profond respect.

**À notre maître et juge de thèse**  
**Professeur AIT AMEUR Mustapha**  
**Professeur de l'enseignement supérieur d'hématologie biologique**  
**Hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

Vous nous faites l'immense honneur de faire partie de notre jury.

Nous avons pu apprécier l'étendue de vos connaissances et vos grandes qualités humaines. Veuillez accepter, Professeur, nos sincères remerciements et Notre profond respect.

**À notre maître et juge de thèse**  
**Professeur El MEZOUARI El mostafa**  
**Professeur agrégé de Parasitologie- Mycologie**  
**Hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

Nous vous remercions sincèrement de l'honneur que vous nous faites en siégeant dans notre jury. Nous sommes très reconnaissants de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger notre travail. Veuillez croire, cher Maître, à l'expression de notre profond respect et de notre haute considération.

**A Monsieur le docteur YAHYAOUI Hicham**  
**Spécialise en Biologie**  
**Hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

A qui j'exprime ma très sincère reconnaissance pour son aide. Tous vos conseils, vos remarques, votre disponibilité, votre grande générosité et votre soutien sans faille ont rendu cette thèse possible. Veuillez trouver ici le témoignage de mon affection et de ma profonde estime.

**Au Personnel du laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Militaire  
Avicenne**

Nous vous remercions sincèrement pour l'aide précieuse et  
incomparable que vous nous avez prodigué.

**Au Personnel du Service de Santé Publique, Médecine  
Communautaire et Épidémiologie, particulièrement:  
Madame le Professeur SEBBANI Majda, Professeur assistante en  
Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et  
hygiène)**

**Monsieur MANSOURI Adil résident en Médecine Communautaire  
(médecine préventive, santé publique et hygiène)**

Nous vous remercions pour vos efforts, le temps que vous avez  
consacré pour nous aider à accomplir ce travail.



# *ABBREVIATIONS*



## Liste des abréviations

<b>ACAS</b>	:	Système d'analyse cluster adaptive.
<b>CSH</b>	:	Cellules souches hématopoïétiques.
<b>CCMH</b>	:	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.
<b>FN</b>	:	Faux négatifs.
<b>FP</b>	:	Faux positifs.
<b>GFHC</b>	:	Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire.
<b>GR</b>	:	Globules rouges.
<b>HMA</b>	:	Hôpital Militaire Avicenne.
<b>Ig</b>	:	Immunoglobulines.
<b>ICSH</b>	:	International Council for Standardization in Haematology.
<b>IDVE</b>	:	Indice de déviation du volume érythrocytaire.
<b>IDGR</b>	:	Indice de distribution du volume des globules rouges.
<b>Ly</b>	:	lymphocytes.
<b>MGG</b>	:	May-Grünwald-Giemsa.
<b>MO</b>	:	Moelle osseuse.
<b>Mo</b>	:	Monocytes.
<b>MPO</b>	:	Myéloperoxydasique.
<b>NFS</b>	:	Numération de la formule sanguine.
<b>NRBC</b>	:	Nucleated red blood cells.
<b>PLT</b>	:	Plaquette.
<b>PNB</b>	:	Polynucléaires basophiles.

<b>PNE</b>	:	Polynucléaire éosinophile.
<b>PNN</b>	:	Polynucléaire neutrophile.
<b>SLP</b>	:	Syndrome lymphoprolifératif.
<b>TCMH</b>	:	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.
<b>VGM</b>	:	Volume globulaire moyen.
<b>VPN</b>	:	Valeur prédictive négative.
<b>VN</b>	:	Vrais négatifs.
<b>VP</b>	:	Vrais positifs.
<b>VPP</b>	:	Valeur prédictive positive.



# *LISTE DES ILLUSTRATIONS*



# Liste des tableaux

**Tableau I** : Répartition selon les tranches d'âges.

**Tableau II** : Répartition des tubes selon les services d'origines.

**Tableau III** : Répartition des indications des hémogrammes demandés.

**Tableau IV** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau V** : Evaluation de la concordance des alarmes « microcytose ».

**Tableau VI** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau VII** : Evaluation de la concordance: alarme « leucocytose ».

**Tableau VIII** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau IX** : Evaluation de la concordance des alarmes « lymphocytose ».

**Tableau X** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XI** : Evaluation de la concordance des alarmes « lymphocytes atypiques ».

**Tableau XII**: Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XIII** : Evaluation de la concordance des alarmes « granulocytes immatures ».

**Tableau XIV** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XV** : Evaluation de la concordance des alarmes « blastes ».

**Tableau XVI** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XVII** : Evaluation de la concordance: alarme « érythroblastes ».

**Tableau XVIII** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XIX** : Evaluation de la concordance d'alarme « thrombopénie ».

**Tableau XX** : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.

**Tableau XXI** : Evaluation de la concordance des alarmes « agrégats plaquettaires ».

**Tableau XXII** : Récapitulation comparative de la performance de chaque alarme.

**Tableau XXIII** : Paramètres mesurés et calculés pour les automates SYSMEX.

**Tableau XXIV** : Valeurs normales de la numération en fonction de l'âge et du sexe.

**Tableau XXV** : Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la numération globulaire

**Tableau XXVI** : Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la formule leucocytaire.

**Tableau XXVII** : Alarmes qualitatives des différentes lignées

**Tableau XXVIII** : Description de la méthode du frottis sanguin

**Tableau XXIX** : Anomalies de forme et maladies associées.

**Tableau XXX** : Inclusions intra-érythrocytaires et maladies associées.

**Tableau XXXI** : Aspect morphologique normal des leucocytes.

**Tableau XXXII** : Anomalies cytoplasmiques des PNN.

**Tableau XXXIII** : Anomalies nucléaires des PNN

**Tableau XXXIV** : Caractéristiques cytologiques des principales cellules anormales.

**Tableau XXXV** : Intervalles de référence des différentes études

**Tableau XXXVI** : Performance analytique « alarme lymphocytes atypiques » des 5 analyseurs.

**Tableau XXXVII** : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypique » des deux automates de Sysmex.

**Tableau XXXVIII** : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypiques » des deux automates Beckman Coulter DxH 800 et Sysmex XN –3000.

**Tableau XXXIX** : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypiques » des différentes études.

**Tableau XL** : Fiabilité d'alarme des granulocytes immatures des 4 automates.

**Tableau XLI** : Comparaison de la performance analytique d'alarme « granulocytes immatures » de 5 automates.

**Tableau XLII** : Performance analytique d'alarmes de granulocytes immatures des deux automates Sysmex XN–2000 et Sysmex XE–5000.

**Tableau XLIII** : Performance analytique d'alarmes « granulocytes immatures » des deux automates Sysmex XN–3000 et Beckman coulter DxH 800.

**Tableau XLIV** : Performance analytique d'alarme « granulocytes immatures » des différentes études.

**Tableau XLV** : Spécificité et sensibilité de l'alarme « blastes » des 4 automates.

**Tableau XLVI** : Comparaison de la performance analytique de l'alarme « blastes » de 5 automates.

**Tableau XLVII** : Comparaison de la performance de l'alarme « blastes » par les deux automates XN–3000 et DxH 800.

**Tableau XLVIII** : Sensibilité et spécificité des différentes séries d'alarmes « blastes ».

**Tableau XLIX** : Sensibilité et spécificité des alarmes « érythroblastes » des différents automates.

**Tableau L** : Sensibilité et spécificité des automates à l'alarme « thrombopénie » selon la méthode de comptage.

**Tableau LI** : Performance analytique d'alarme « agrégats plaquettaire »s de 5 automates.

**Tableau LII** : Sensibilité et spécificité des alarmes « agrégats plaquettaires » des différents automates.

# Liste des figures

**Figure 1** : Automate Sysmex© XT- 4000i utilisé pour réaliser la NFS.

**Figure 2** : Fiche technique de l'automate Sysmex XT-4000i.

**Figure 3** : Etapes de l'étalement dans notre laboratoire.

**Figure 4** : Etapes de la coloration rapide (kit-RAL 555) dans notre laboratoire.

**Figure 5** : Microscpe optique et compteur à cellule.

**Figure 6** : Coloration des éléments cellulaires au MGG d'après A. STEIGER.

**Figure 7** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « taille » d'après A.STEIGER.

**Figure 8** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « forme du noyau » d'après A. STEIGER.

**Figure 9** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « densité de la chromatine » d'après A. STEIGER.

**Figure 10** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « couleur du cytoplasme » d'après A. STEIGER.

**Figure 11** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « inclusion cytoplasmique » d'après A. STEIGER.

**Figure 12** : Schéma de l'hématopoïèse.

**Figure 13** : modèle du compteur Coulter.

**Figure 14** : Principe de mesure par la variation d'impédance: La valeur de l'impulsion U est proportionnelle au volume cellulaire.

**Figure 15** : Diffraction lumineuse La cellule passe individuellement devant un faisceau lumineux conventionnel.

**Figure 16** : Scatter des populations leucocytaires.

**Figure 17** : Histogramme érythrocytaire.

**Figure 18** : Indice de distribution du volume des hématies.

**Figure 19** : a- histogramme plaquettaire normal (Les tirets de couleur verte correspondent au discriminant bas entre 2 et 6 fL et au discriminant haut entre 12 et 30 fL. b: scattergramme normal (Ly, Mo, PNN, Ba, Eo).

**Figure 20** : Réticulocytes. La coloration au bleu de crésyl met en évidence l'acide ribonucléique (ARN) contenu dans les réticulocytes (Anémie hémolytique).

**Figure 21** : Frottis de sang normal coloré au MGG. Globules rouges normaux par leur taille, leur colorabilité et leur forme.

**Figure 22** : Différentes anomalies de la teinte des globules rouges.

**Figure 23** : Différentes anomalies morphologiques des globules rouges

**Figure 24** : Différentes formes des inclusions intra-érythrocytaires

**Figure 25** : Polynucléaires neutrophiles normal, coloration MGG.

**Figure 26** : Polynucléaires éosinophiles normal.

**Figure 27** : Polynucléaires basophiles normal.

**Figure 28** : Lymphocyte normal.

**Figure 29** : Monocyte sanguin normal.

**Figure 30** : Neutrophile mature avec granulations nettement visibles et 3 petites zones bleutées cytoplasmique = corps de Döhle.

**Figure 31** : Neutrophile avec noyau hypolobé et chromatine hypercondensée

**Figure 32** : Lymphocyte activé (immunostimulé).

**Figure 33** : Plaquettes de grande taille et partiellement dégranulées au cours d'une leucémie myéloïde.

**Figure 34** : Association de grandes plaquettes normalement granuleuses et d'inclusions dans les polynucléaires est évocatrice du syndrome de May-Hegglin.

**Figure 35** : Plaquettes de petite taille. Syndrome de Wiskott-Aldrich.



# Liste des graphiques

**Graphique 1** : Répartition des patients en fonction du sexe.

**Graphique 2** : Répartition des cas en fonction de leurs tranches d'âge.

**Graphique 3** : Répartition des tubes en fonction du service d'origine.

**Graphique 4** : Répartition des indications des hémogrammes demandés.

**Graphique 5** : Répartition des alarmes de microcytose.

**Graphique 6** : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons.

**Graphique 7**: Frottis sanguin des échantillons avec alarme de microcytose.

**Graphique 8** : Répartition des alarmes de leucocytose.

**Graphique 9** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 10** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de la leucocytose.

**Graphique 11** : Répartition des alarmes de lymphocytose.

**Graphique 12** : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons.

**Graphique 13** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de lymphocytose.

**Graphique 14** : Répartition des alarmes de lymphocytes atypiques.

**Graphique 15** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 16** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de lymphocytes atypiques

**Graphique 17** : Répartition des alarmes de granulocytes immatures.

**Graphique 18** : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons

**Graphique 19** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de granulocytes immatures.

**Graphique 20** : Répartition des alarmes blaste.

**Graphique 21**: Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 22** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de blaste.

**Graphique 23** : Répartition des alarmes d'érythroblastes.

**Graphique 24** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 25** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme des érythroblastes.

**Graphique 26** : Répartition des alarmes de thrombopénie.

**Graphique 27** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 28** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme de thrombopénie.

**Graphique 29**: Répartition des alarmes d' agrégats plaquettaires.

**Graphique 30** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

**Graphique 31** : Performance analytique d'alarme de granulocytes immatures des différentes études.

**Graphique 32** : Sensibilité et spécificité des différentes séries d'alarmes « blastes»



# *PLAN*



<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>MATÉRIEL ET MÉTHODES</b>	<b>4</b>
<b>I. Patients</b>	<b>5</b>
<b>II. Méthodes</b>	<b>5</b>
1. Type et période d'étude	5
2. Collecte des données	5
2.1. Hémogramme	5
3. Saisie et analyse des données	16
4. Limites de notre étude	17
5. Critères d'inclusion	17
6. critères d'exclusions	17
<b>III. Cadre de l'étude</b>	<b>18</b>
<b>RÉSULTATS</b>	<b>19</b>
<b>I. Données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques</b>	<b>20</b>
1. Identification des patients	20
2. Sexe	20
3. Age	21
4. Répartition selon le service d'origine	21
5. Renseignements cliniques et thérapeutiques	22
<b>II. Etude des alarmes des différentes lignées cellulaires</b>	<b>24</b>
1. Lignée rouge	24
1.1. Alarme « microcytose»	24
2. Lignée blanche	27
2.1. Alarme « leucocytose»	27
2.2. Alarme «Lymphocytose»	31
2.3. Alarme «lymphocytes atypiques»	33
2.4. Alarme «granulocytes immatures»	36
2.5. Alarme « blastes»	38
2.6. Alarme « érythroblastes»	41
3. Lignée plaquettaire	44
3.1. Alarme «thrombopénie»	44
3.2. Alarme «agrégats plaquettaires»	46

<b>DISCUSSION</b>	<b>50</b>
<b>Chapitre 1 : Rappels</b>	<b>51</b>
<b>I. Rappel</b>	<b>52</b>
1. Origine des éléments figurés du sang	52
1.1. Hématopoïèse physiologique	52
1.2. Compartiments cellulaires de l'hématopoïèse	52
1.3. Cellules sanguines	55
<b>II. Automatisation</b>	<b>58</b>
1. Historique et progrès de l'automatisation	58
2. Principe de mesure des automates	60
3. Techniques de mesure des compteurs d'hématologie	61
4. Application à la numération des éléments du sang	67
4.1. Analyse de la lignée rouge	67
4.2. Analyse de la lignée blanche	70
4.3. Analyse de la lignée plaquettaire	71
5. Principe de mesure de l'analyseur automatisé : sysmex XT- 4000I	72
<b>III. Hémogramme</b>	<b>74</b>
1. Indications d'hémogramme	75
2. Numération de la formule sanguine	76
2.1. Alarmes	77
3. Anomalies de la numération de la formule sanguine	81
3.1. Anomalies quantitatives	81
3.2. Anomalies qualitatives	85
4. Morphologie des cellules sanguine normales et pathologiques	86
4.1. Lignée rouge	87
4.2. Lignée blanche	95
4.3. Lignée plaquettaire et ses anomalies morphologiques	108
<b>Chapitre 2 : Discussion des résultats</b>	<b>112</b>
<b>I. Données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques</b>	<b>113</b>
<b>II. Discussion des alarmes des différentes lignées cellulaires</b>	<b>118</b>
1. Lignée rouge	118
1.1. Alarme « microcytose »	118

2. Lignée blanche	120
2.1. Alarme « leucocytose »	120
2.2. Alarme « lymphocytose »	122
2.3. Alarme « lymphocytes atypiques »	123
2.4. Alarme « granulocytes immatures »	127
2.5. Alarme « blastes »	132
2.6. Alarme « érythroblastes »	138
3. Lignée plaquettaire	141
3.1. Alarme « thrombopénie »	141
3.2. Alarme « agrégats plaquettaires »	142
<b>RECOMMANDATIONS</b>	<b>147</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>149</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>151</b>
<b>RÉSUMÉ</b>	<b>154</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>161</b>



# *INTRODUCTION*



A partir des années 70, avec la croissance de la demande, la biologie médicale a beaucoup évolué et les moyens techniques dont elle dispose se sont considérablement améliorés. Les instruments automatiques se sont répandus dans toutes les disciplines de la biologie médicale, l'hématologie n'y fait pas exception. L'automatisation initiale du bilan hématologique est née du besoin d'un comptage fiable et rapide des éléments figurés du sang, le développement de nouvelles techniques évoluées a rendu l'analyse cellulaire beaucoup plus détaillée. Le tout au profit de l'exactitude diagnostique et par conséquent les progrès thérapeutiques [1],[2],[3].

L'hémogramme est l'examen de base en hématologie cellulaire. Il est maintenant automatisé non seulement pour la numération des éléments figurés du sang (hématies, leucocytes et plaquettes) et la détermination des paramètres érythrocytaires, mais aussi le plus souvent pour l'identification des populations leucocytaires (polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et monocytes) permettant ainsi d'établir une formule leucocytaire quelle que soit la méthode utilisée (physique, cytochimique, lyse chimique, marquage fluorescent). Ces résultats vont s'accompagner de messages ou d'alarmes qui sont de deux ordres : alarmes quantitatives correspondant à des résultats en dehors des valeurs de référence définies par le biologiste, ou alarmes qualitatives proposées par le fabricant de l'automate lorsque ces populations sont mal positionnées ou insuffisamment individualisées les unes des autres sur les diagrammes cellulaires [4],[5].

Le biologiste va ainsi devoir détecter les pièges de la phase pré-analytique ainsi qu'un certain nombre de pièges techniques au moment de la validation des résultats de l'automate. Il restera alors à déterminer les cas nécessitant une lecture d'un frottis au microscope pour confirmer ou préciser certains résultats de l'automate selon des critères définis par plusieurs sociétés savantes [5].

À l'heure actuelle les automates d'hématologie cellulaire fournissent des résultats rapides, précis et exacts qu'il s'agisse d'hémogrammes normaux ou anormaux. Les fabricants d'automates ont tenu compte des diverses insuffisances signalées par les utilisateurs, ils ont amélioré avec les années la qualité d'analyse de leurs automates et avec les progrès de l'analyse informatique, ils proposent maintenant des techniques pointues pour les divers paramètres de la numération. A l'obtention de résultats chiffrés, s'est ajoutée une visualisation au moins partielle des particules énumérées, sous la forme d'histogrammes mono-, bi- ou multiparamétriques [6].

Le choix d'un automate d'hématologie est une étape déterminante, qui doit prendre en compte à la fois la qualité des résultats et des impératifs économiques : charge de travail, structure et organisation du laboratoire [7].

Notre travail s'est fixé comme objectif d'analyser du système d'alarme en termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP) et négative (VPN) de l'automate Sysmex XT-4000i ainsi que la signification de chaque type d'alarme en comparaison avec la méthode de référence qui est la microscopie optique, à travers une analyse bibliographique et une étude prospective, au sein du laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech.



# *MATÉRIEL ET MÉTHODES*



## I. Patients

Notre étude concernait 100 patients, ayant bénéficiés d'un hémogramme. Une numération de la formule sanguine (NFS) ainsi qu'un frottis sanguin ont été réalisés à l'unité de cytologie du Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne (HMA) de Marrakech.

## II. Méthodes

### 1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, descriptive et analytique, qui a évalué la performance des alarmes d'un automate de NFS, en les comparant avec les données du frottis sanguin, réalisée au niveau du laboratoire d'hématologie de l'HMA et étalée sur une période d'un an.

### 2. Collecte des données

L'ensemble des différents paramètres de l'étude ont été collectés et renseignés à l'aide d'une fiche d'exploitation préétablie (Annexe) qui a permis de rassembler et d'analyser les principaux caractères épidémiologiques, cliniques et biologiques pour chaque échantillon reçu.

Le nombre total des échantillons examinés et les fiches de prescription correspondantes durant la période de l'étude était de 100.

#### 2.1. Hémogramme

L'hémogramme correspond à l'étude quantitative et qualitative du sang. Il comprend les paramètres suivants : NFS, frottis sanguin.

##### a. NFS

Dans notre contexte, la réalisation d'une NFS consiste à compter grâce à un automate les différents éléments cellulaires du sang.

### **Phase pré-analytique**

Le prélèvement requérait une technique rigoureuse appliquée dans notre laboratoire, et il est accompagné toujours d'une fiche de renseignement.

Le prélèvement est effectué sur un sang veineux (veine du pli du coude) après la mise en place d'un garrot. Chez le nourrisson, il est le plus souvent effectué au niveau de la pulpe d'un doigt ou soit au niveau du talon. Nous avons utilisé un anticoagulant de type EDTA calcique, ensuite une agitation du tube par retournements successifs s'est effectuée afin d'éviter la formation de micro-caillots et pour avoir une analyse cytologique correcte et une numération plaquettaire exacte.

### **Phase analytique**

Les tubes passaient sur l'automate où les analyses étaient effectuées après la validation des contrôles de qualité internes. L'automate utilisé dans notre étude était SYSMEX XT 4000i.



**Figure 1 : Automate Sysmex XT- 4000i utilisé pour réaliser la NFS.**

<b>Principes</b> Cytométrie de flux fluorescente Hydrodynamique, Courant continu Sulfate sodique de lauryle sans cyanure (SDS)	
<b>Rubrique de test</b> 27 Paramètres rapportables relatifs au sang entier : WBC (white blood cell) , RBC( red blood cell), HGB(hemoglobin), HCT(hematocrit), MCV(mean corpuscular volume) , MCH(mean corpuscular hemoglobin), MCHC ( mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT( <i>platelet</i> ),NEUT%(neutrophil), LYMPH% (lymphocyte), MONO%(monocyte), EO%( <i>eosinophil</i> ), BASO%(basophil), IG%( <i>Immature Granulocyte</i> ), NEUT#, LYMPH#, MONO#, EO#, BASO#, IG#, RDW-SD ( <i>width standard deviation</i> ), RDW-CV( <i>coefficient of Variation of Red Cell Distribution Width</i> ), MPV( <i>mean platelet volume</i> ), RET%,RET#, IRF( <i>immature RET fraction</i> ), RET-He ( <i>Reticulocyte Hemoglobin</i> )	
<b>Linéarité</b> WBC: 0 - 440.00 x 10 <sup>3</sup> /μL RBC: 0 - 8.00 x 10 <sup>6</sup> /μL PLT: 0 - 5,000 x 10 <sup>3</sup> /μL	
<b>Volume D'échantillon</b> Mode ferme: 150μL Mode ouvert: 85μL Mode capillaire: 40μL	
<b>Débit de Traitement</b> Mode de sang entier : 100 échantillons/hr Stockage des Données (UTI : Unité de Traitement D'information) : 10,000 échantillons, y compris les éléments graphiques	
<b>Dimensions/Poids</b>	Unité Principale, y compris l'échantillonneur:
<b>Largeur x Hauteur x</b>	20,9 po x 24,8 po x 28,3 po / 130 livres
<b>Profondeur [po] / [livres]</b>	Unité Pneumatique: 11,0 po x 15,7 po x 14,0 po / 37,5 livres

**Figure 2** : Fiche technique de l'automate Sysmex XT-4000i [1].

### Phase post-analytique

Les résultats étaient ensuite validés par les biologistes et les comptes rendus édités.

#### *b. Frottis sanguin*

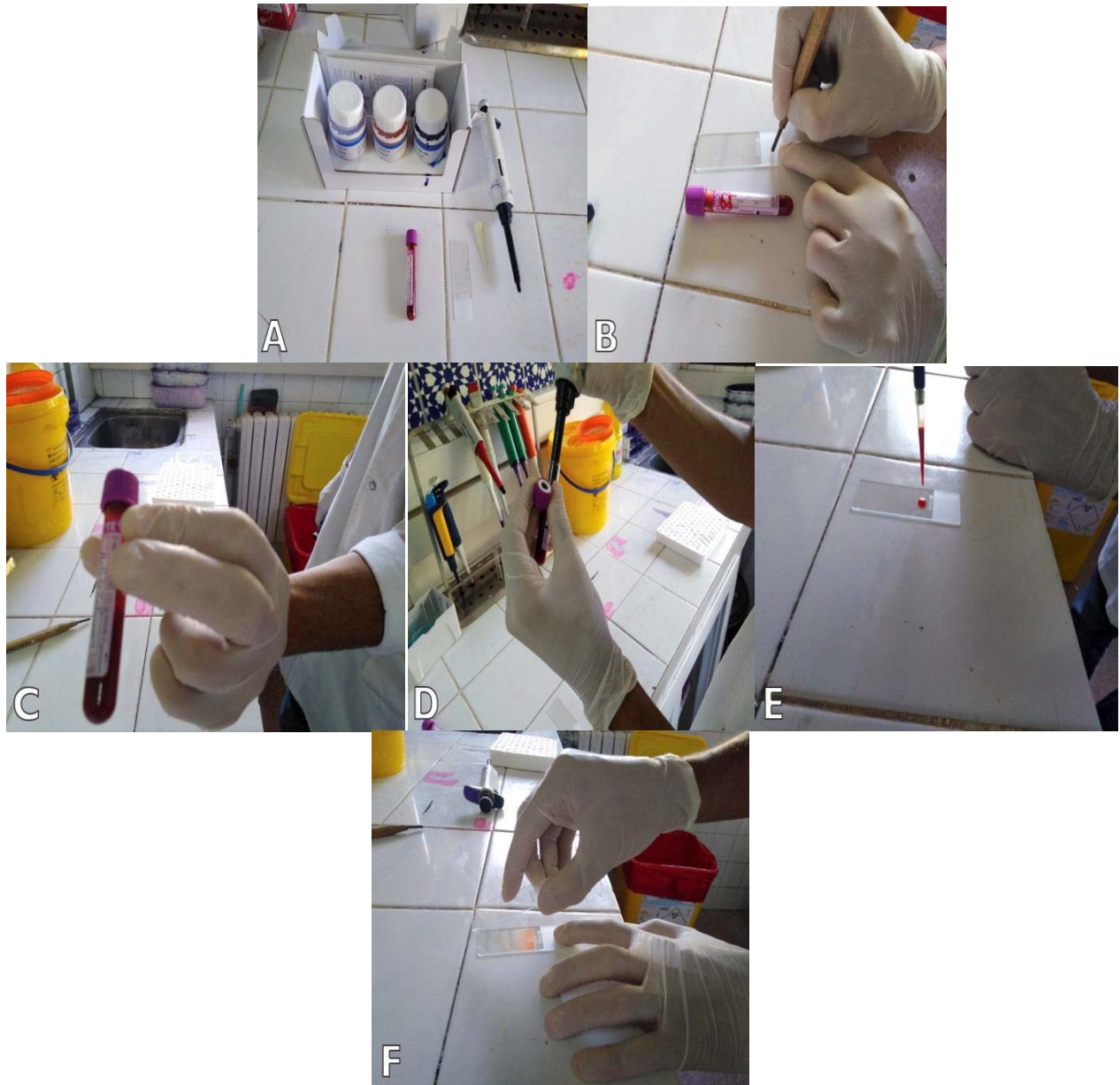
Dans notre étude, le frottis est réservé aux échantillons pour lesquels l'automate a engendré des alarmes anormales en respectant les recommandations décrites dans la littérature.

Une évaluation minutieuse des différents paramètres contribuant au notre résultat final est exercée par notre équipe (la qualité de la coloration, la qualité du microscope, ainsi que l'expérience et les compétences de l'opérateur).

#### *b.1. Etalement*

Représente une étape délicate de notre examen, il est procédé avec grand soin par nos biologistes, nous avons déposé une goutte de sang sur une lame dégraissée à environ 1 cm du bord sans que la goutte s'écrase, puis nous avons placé la lame rodée contre la lame dégraissée et la goutte de sang. En 2 secondes le sang s'étalait sur toute la largeur de la lame rodée, enfin nous faisons glisser par un mouvement régulier la lame rodée vers l'extrémité de la lame dégraissée.

Le frottis est séché soigneusement à l'air libre, la coloration n'est réalisée qu'après deux heures. Après le séchage, le nom et la date sont indiqués sur le côté large (sauf si la lame a possédé une zone spéciale destinée au marquage).



**Figure 3 : Etapes de l'étalement dans notre laboratoire.**

**b.2. Coloration**

Dans notre préparation, nous avons suivi les protocoles ci-dessous afin de réaliser une coloration correcte. Nous avons adopté deux techniques différentes :

- Coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG) [8].

Représente la coloration de référence dans notre laboratoire.

La 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.

La 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 colorant de Giemsa pendant ce temps.
- Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.

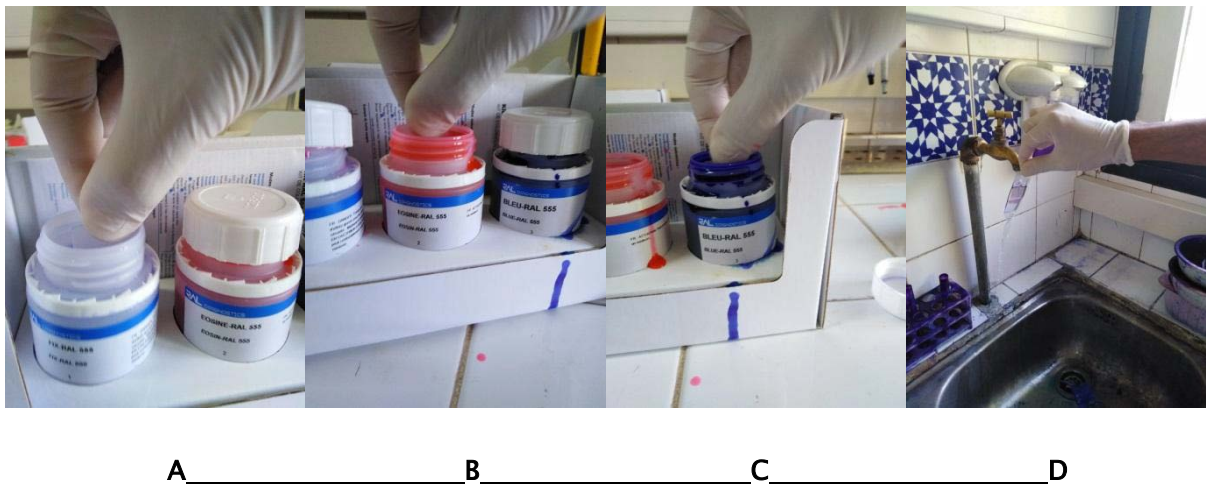
La coloration au Giemsa :

- Préparer la dilution au 1/10ème du colorant de Giemsa pendant les 2 minutes précédentes.
- Ajouter le colorant Giemsa sur la lame.
- Laisser agir 20 minutes (coloration lente).
- Rincer sous un jet d'eau neutre.

- La coloration rapide

C'est notre coloration d'orientation en recouvrant la lame pendant une minute de solution de May- Grünwald et en raccourcissant la phase de Giemsa d'une à deux minutes avec une solution «concentrée », selon le protocole suivant [9] :

1. Agiter la lame jusqu'au séchage complet du frottis.
2. Immerger le frottis sanguin 5 fois pendant 1 seconde dans la solution fixatrice (1 seconde dans la solution, 1 seconde dehors etc.) Laisser égoutter et enlever l'excédent avec du papier absorbant, pour ne pas mélanger les colorants.
3. Plonger le frottis 3 fois et 1 seconde dans la solution 2 colorante (rose).
4. Plonger le frottis 6 fois et 1 seconde dans la solution 3 colorante (bleue).
5. Rincer avec la solution tamponnée à pH = 7,2.
6. Sécher le dessous de la lame avec le papier absorbant.



**Figure 4 : Etapes de la coloration rapide (kit-RAL 555) dans notre laboratoire.**

**b.3. Séchage**

C'est la dernière étape de notre préparation. Après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre, nous avons laissé sécher la lame à l'air en position inclinée au moins 5 minutes avant l'examen microscopique du Frottis.

**b.4. Qualités d'un bon frottis [10]**

La vérification de la qualité d'un frottis était primordiale dans notre étude en cherchant la présence des critères suivants :

- Il doit posséder une tête, un corps et une queue en empreinte de pouce.
- Il ne doit pas être ni trop mince (sinon pauvre en éléments), ni trop épais (sinon éléments rétractés non identifiables) et régulier avec des bords parallèles à la lame. Il doit être sans franges excessives.
- Il ne doit pas atteindre ni les bords, ni les extrémités de la lame.
- Il doit être correctement séché.
- Il ne doit pas présenter de stries verticales ou horizontales ou des trous.

*b.5. Lecture*

L'examen est toujours débuté au faible grossissement (x100) qui nous a permis de juger la qualité du frottis et de la coloration et aussi de choisir la zone de la lecture. L'analyse plus fine des éléments figurés du sang est effectuée avec l'objectif à immersion d'huile et donc un agrandissement x 1000. Nous avons parcouru la zone optimale en déplaçant la lame selon un trajet en méandres. Avant d'établir la formule leucocytaire, nous avons apprécié la morphologie des globules rouges et évalué la richesse en plaquettes.








La formule leucocytaire était annotée sur une liste manuelle ou à l'aide d'un compteur à cellule (CELL COUNTER). Cette formule est d'autant plus représentative que le nombre des cellules comptées est élevé.



**Figure 5 :** Microscope optique et compteur à cellule.

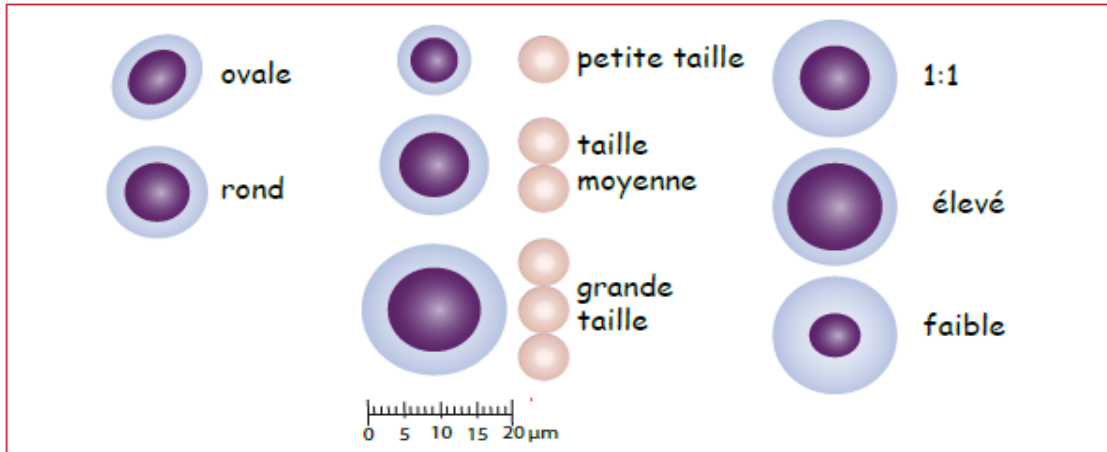
Au cours de la lecture, nous avons déterminé des paramètres morphologiques et colorimétriques (mentionnés ci-dessous) spécifiques de chaque cellule.

- Nous avons effectué une analyse fine de la basophilie des cellules.

<i>Colorant, terme technique</i>		<i>Exemple</i>
bleu = «basophile»	 basophile clair	Cytoplasme des lymphocytes
	 basophile foncé	
rouge clair, orange = «acidophile», «éosinophile»	 rouge clair	Membrane d'érythrocytes matures
	 orange	Granulation des granulocytes éosinophiles
violet = «azurophile»	  violet	Chromatine nucléaire, terme principalement utilisé pour la granulation, p.ex. des lymphocytes ou promyélocytes.
rose pâle, brunâtre = «neutrophile»	 rose-brunâtre	Cytoplasme des granulocytes neutrophiles.

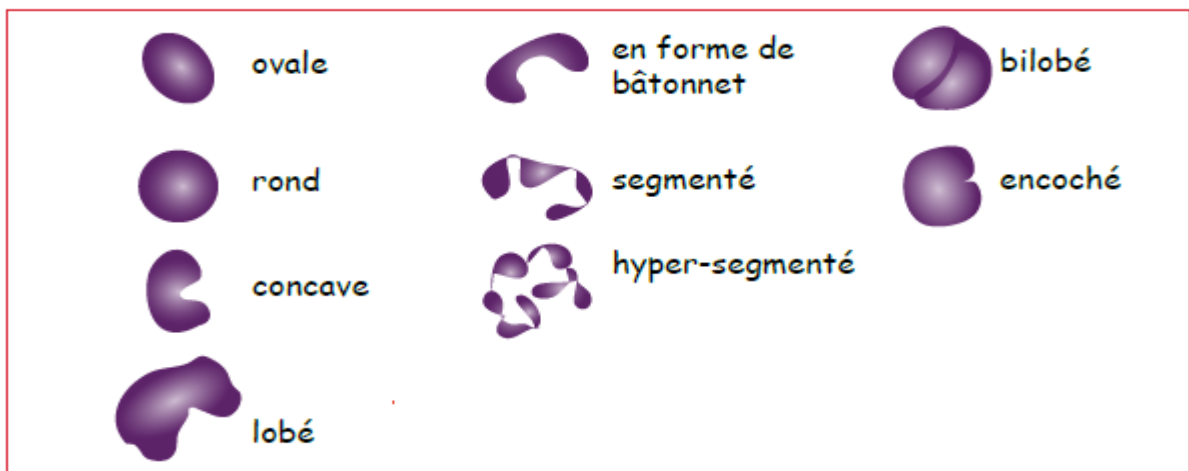
**Figure 6 :** Coloration des éléments cellulaires au MGG d'après A. STEIGER [11].

- Nous avons apprécié la forme, la taille et le rapport nucléo-cytoplasmique des différentes cellules.



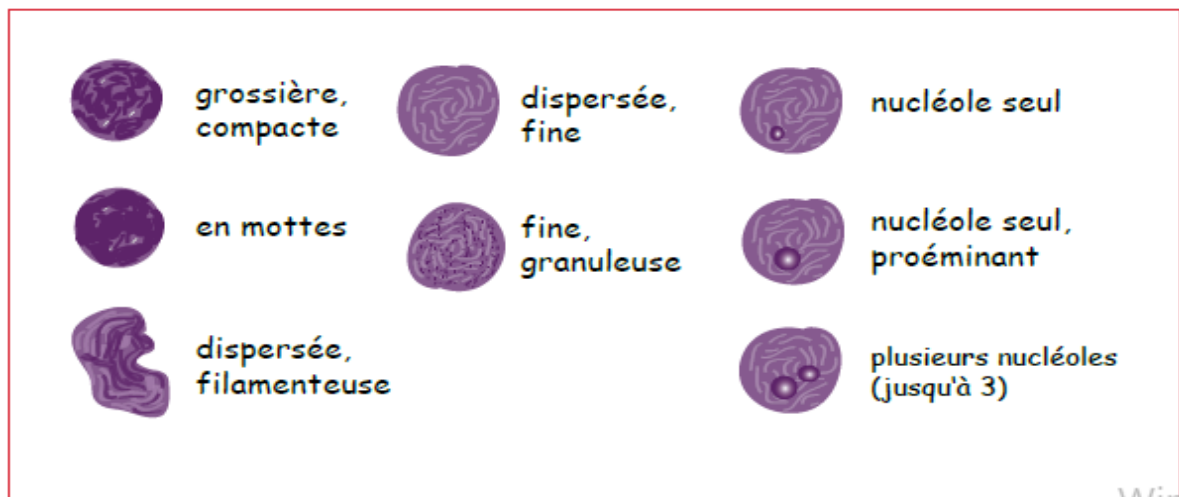
**Figure 7 :** Description morphologique d'une cellule avec le critère « taille » d'après A.STEIGER [11].

- Nous avons décrit les cellules en fonction des formes de son noyau qui sont caractéristiques de différents types de leucocyte. La forme peut varier en fonction de l'activité cellulaire, de l'appartenance à une lignée cellulaire ou de la pathologie.



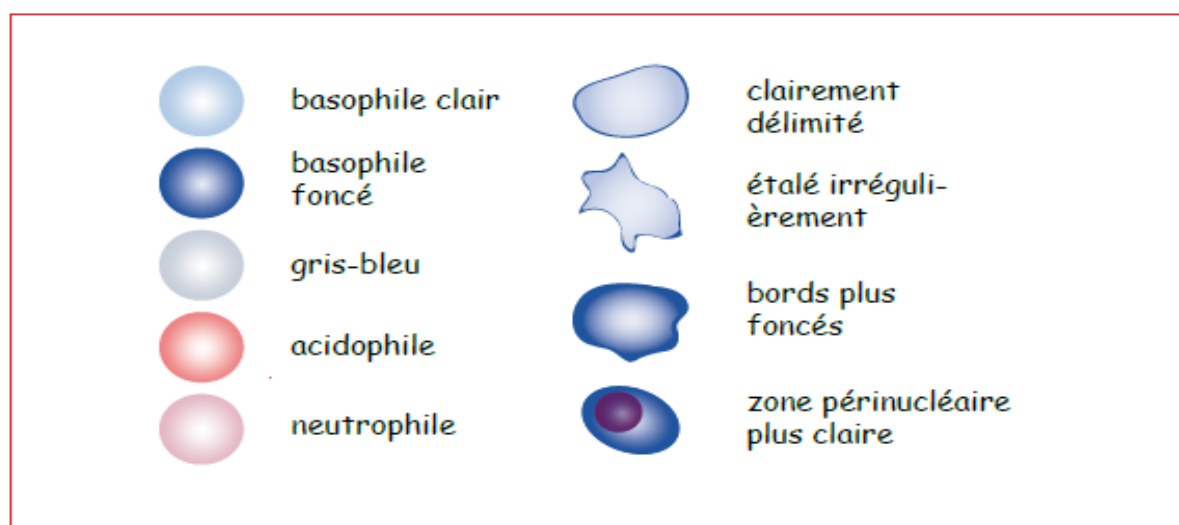
**Figure 8 :** Description morphologique d'une cellule avec le critère « forme du noyau » d'après A. STEIGER [11].

- L'évaluation de la structure de la chromatine est un critère important pour la différenciation des leucocytes. Elle nous a aidés dans le diagnostic différentiel et le suivi d'affections hématologiques.



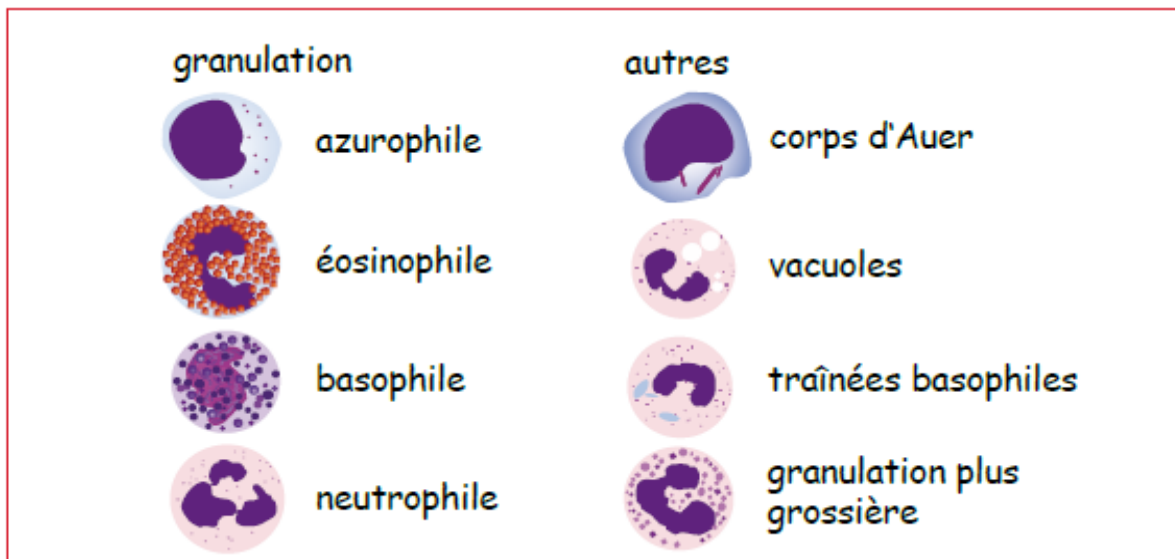
**Figure 9:** Description morphologique d'une cellule avec le critère « densité de la chromatine »  
d'après A. STEIGER [11].

- La variation des couleurs du cytoplasme est une partie caractéristique de certains leucocytes. Elle nous a donné des indices sur l'activité cellulaire ou sur le degré de la maturation de la cellule.



**Figure 10 :** Description morphologique d'une cellule avec le critère « couleur du cytoplasme »  
d'après A. STEIGER [11].

- Nous avons cherché aussi des inclusions cytoplasmiques comme des granulations ou des vacuoles qui peuvent caractériser des cellules.



**Figure 11** : Description morphologique d'une cellule avec le critère « inclusion cytoplasmique »  
d'après A. STEIGER [11].

### 3. Saisie et analyse des données

Les données recueillies à l'aide des fiches d'exploitation provenaient à partir de :

- NFS
- Le compte rendu du frottis de chaque échantillon reçu
- La fiche de prescription correspondante

Ils ont été ensuite saisis, informatisés et traités au service d'épidémiologie à CHU Mohammed VI. L'exploitation statistique a été réalisée à l'aide du Logiciel Microsoft Excel.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage et représentés sous formes d'histogrammes, secteurs et tableaux.

- Alarmes

Nous avons analysé les performances des alarmes en termes de sensibilité, de spécificité. Les résultats affichés par l'appareil ont été considérés positifs, lorsqu'une ou plusieurs des

alarmes suivantes, considérées comme critère de revue, a (ont) été retrouvée(s) sur le frottis sanguin, pour les leucocytes : leucocytose, lymphocytose, lymphocytes atypiques, blastes, granulocytes immatures ; pour les hématies : microcytose, érythroblastes et pour les plaquettes : thrombopénie et agrégats plaquettaires.

Sur la base de ces données, les échantillons ont été classés en quatre catégories : vrais négatifs (VN), vrais positifs (VP), lorsque les résultats étaient négatifs ou positifs à la fois pour l'automate et le frottis. Les échantillons étaient classés en faux négatifs (FN) lorsque l'examen du frottis révélait une anomalie sans alarme sur le résultat de l'automate, et faux positifs (FP), lorsque l'examen du frottis ne révélait pas d'anomalie, alors que le résultat de l'automate était marqué par une alarme. À partir du nombre de cas dans chacune des catégories, nous avons utilisé les formules suivantes pour calculer la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN [12] :

- La sensibilité : correspond à la relation :  $VP/VP + FN$  ;
- La spécificité : correspond à la relation :  $VN/VN + FN$  ;
- La valeur prédictive positive est définie par la relation :  $VP/VP + FP$  ;
- La valeur prédictive négative est définie par la relation :  $VN/VN + FN$ .

#### **4. Limites de notre étude**

L'absence de certaines informations importantes dans les fiches de prescription, comme l'imprécision sur les antécédents pathologiques des patients et les indications de NFS.

#### **5. Critères d'inclusion**

Dans notre série, nous avons exploité les NFS avec les comptes rendus des frottis sanguins réalisés selon les indications du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC).

#### **6. Critères d'exclusions**

Les autres NFS sans un examen du frottis ont été exclus de notre étude.

### III. Cadre de l'étude

Le laboratoire d'hématologie se situe au sein du bloc des laboratoires. Il se compose d'une unité de cytologie et d'une unité d'hémostase.

Dans les locaux du laboratoire, nous distinguons :

- Une salle dans laquelle sont installées trois automates de cyto-hématologie.
- Une salle d'hémostase équipée de deux automates et deux centrifugeuses.

Le personnel est composé d'un professeur d'hématologie, deux spécialistes, un groupe des résidents en formation et sept techniciens.

L'activité démarrait à 8 heures du matin. Les techniciens procédaient à la réception des tubes de numération. Avant la réalisation des numérations, un contrôle de qualité interne est obligatoire pour s'assurer de la bonne fiabilité des résultats.

Le bilan de biologie médicale se déroule en trois phases [7] :

- La phase pré-analytique comprend le recueil des renseignements cliniques pertinents (prescription), le prélèvement d'un échantillon biologique sur le patient, l'étiquetage, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé.
- La phase analytique, qui est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique; qui est précédé par des contrôles de qualité internes.
- La phase post-analytique de validation permet l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que sa communication appropriée au prescripteur, dans un délai compatible avec l'état de l'art.

Notre étude s'est déroulée au niveau de l'unité de cytologie, recevant les tubes provenant des différents services hospitaliers et aussi de la salle des prélèvements pour les patients non hospitalisés.



# RÉSULTATS



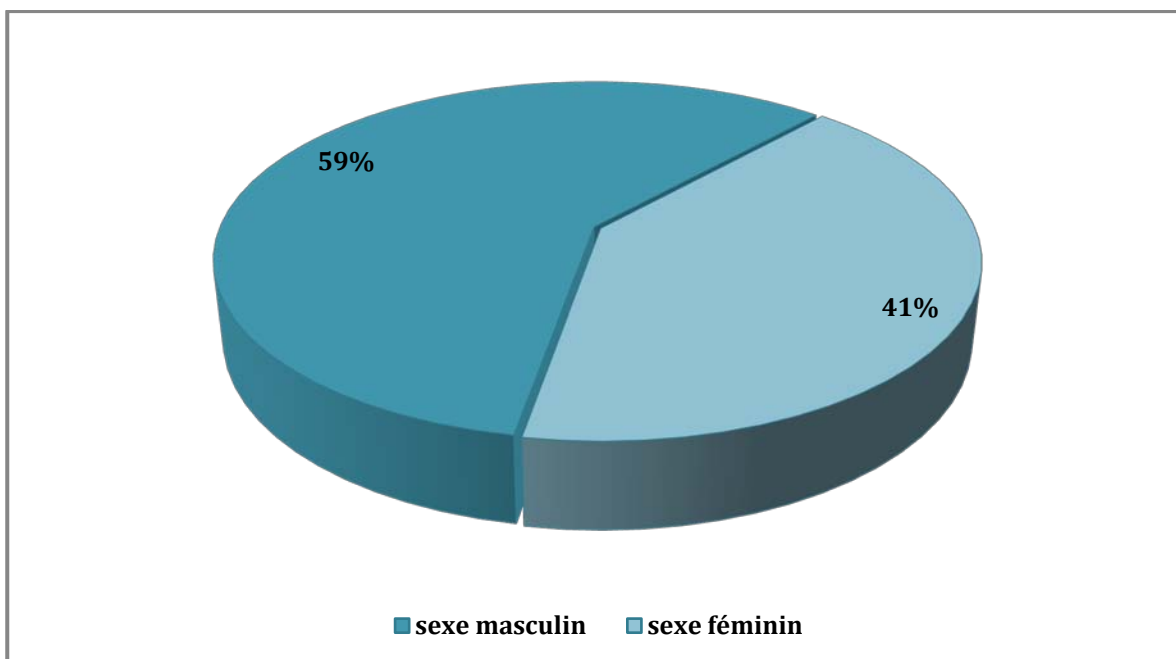
## I. Données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques

### 1. Identification des patients

Le nom et le prénom des patients prélevés ont été mentionnés par les prescripteurs sur toutes les fiches de prescription. Aucune erreur d'identification n'a pas été signalée.

### 2. Sexe

Dans notre série sur les 100 patients prélevés, 41 cas (41%) étaient de sexe féminin et 59 cas (59%) étaient de sexe masculin. La population analysée a montré une prédominance masculine, avec un sexe ratio à 1,43.



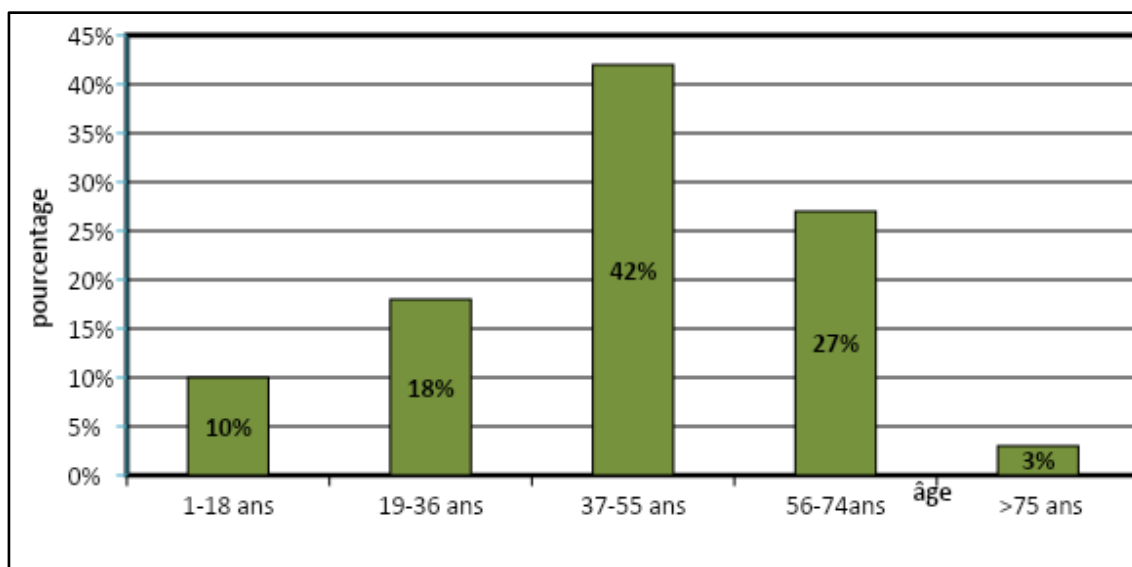
Graphique 1 : Répartition des patients en fonction du sexe.

### 3. Age

Dans notre série, l'âge allait de 12 mois à 83 ans. L'âge médian de nos patients était de 48 ans avec une moyenne d'âge de 44,8 ans et un écart type de 18,5 (44,8+/-18,5). (Tableau I)

**Tableau I : Répartition selon les tranches d'âges.**

Tranches d'âges	Nombre de patient	Pourcentages
1 ans - 18 ans	10	10%
19 ans - 36 ans	18	18%
37 ans - 55 ans	42	42%
56 ans - 74 ans	27	27%
>75 ans	3	3%



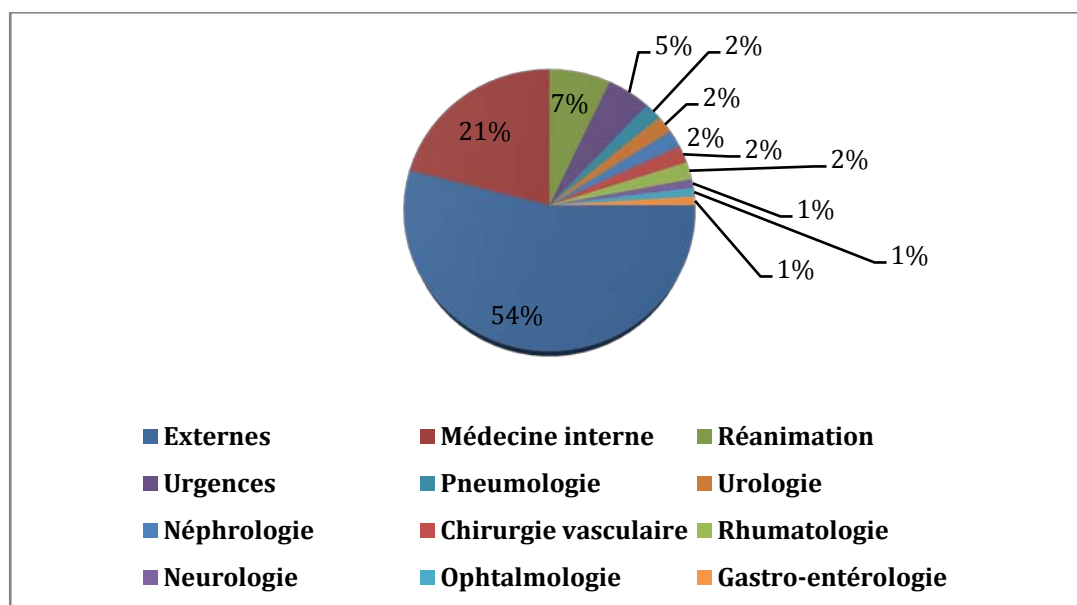
**Graphique 2 : Répartition des cas en fonction de leurs tranches d'âge.**

### 4. Répartition selon le service d'origine

Sur les 100 échantillons sanguins reçus à la salle de cytologie, 54 tubes (54%) ont été réalisés pour les patients non hospitalisés (externes). Les 46 autres tubes (46%) ont été réalisés au niveau des services hospitaliers (internes). (Tableau II)

**Tableau II : Répartition des tubes selon les services d'origines.**

Services d'origine	Nombre des tubes	Pourcentages
Externes	54	54%
Médecine interne	21	21%
Réanimation	7	7%
Urgences	5	5%
Pneumologie	2	2%
Urologie	2	2%
Néphrologie	2	2%
Chirurgie vasculaire	2	2%
Rhumatologie	2	2%
Neurologie	1	1%
Ophtalmologie	1	1%
Gastro-entérologie	1	1%



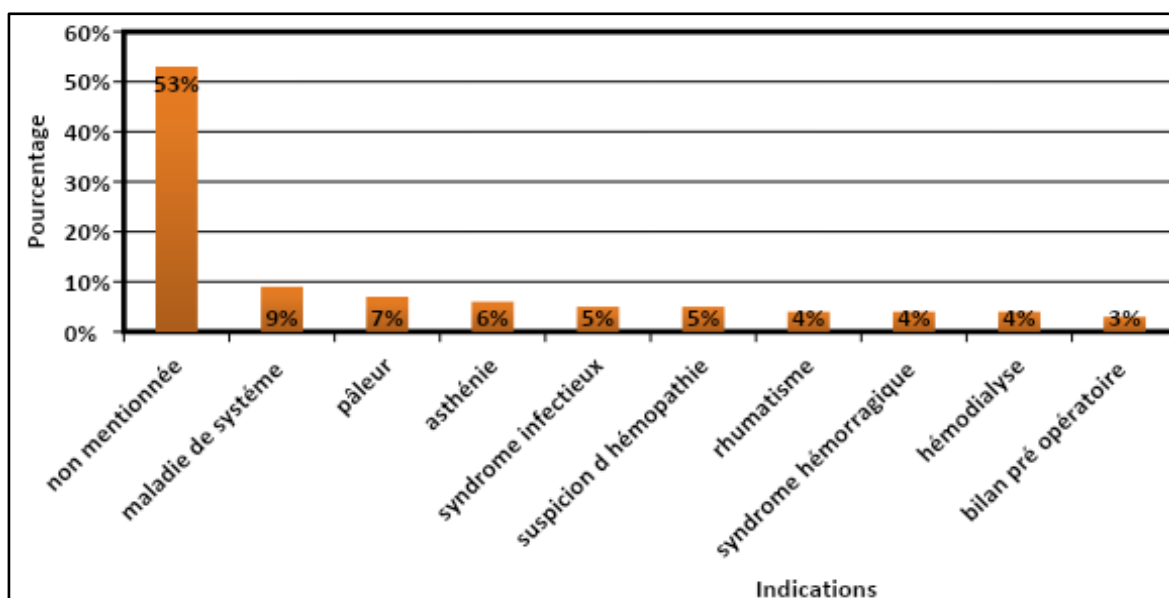
**Graphique 3 : Répartition des tubes en fonction du service d'origine.**

## 5. Renseignements cliniques et thérapeutiques

Les renseignements cliniques, essentiellement les indications de la NFS pour les patients prélevés, étaient mentionnés sur les fiches de prescription dans 47 cas (47%), sur les 53 autres (53%) fiches de prescription aucun renseignement clinique n'a pas été rapporté. (Tableau III)

**Tableau III : Répartition des indications des hémogrammes demandés.**

Indications des NFS	Nombre de NFS	Pourcentages
Non mentionnée	53	53%
Maladie de système	9	9%
Suspicion d'anémie	7	7%
Asthénie	6	6%
Syndrome infectieux	5	5%
Suspicion d'hémopathie	5	5%
Rhumatisme	4	4%
Syndrome hémorragique	4	4%
Hémodialyse	4	4%
Bilan préopératoire	3	3%



**Graphique 4 : Répartition des indications des hémogrammes demandés.**

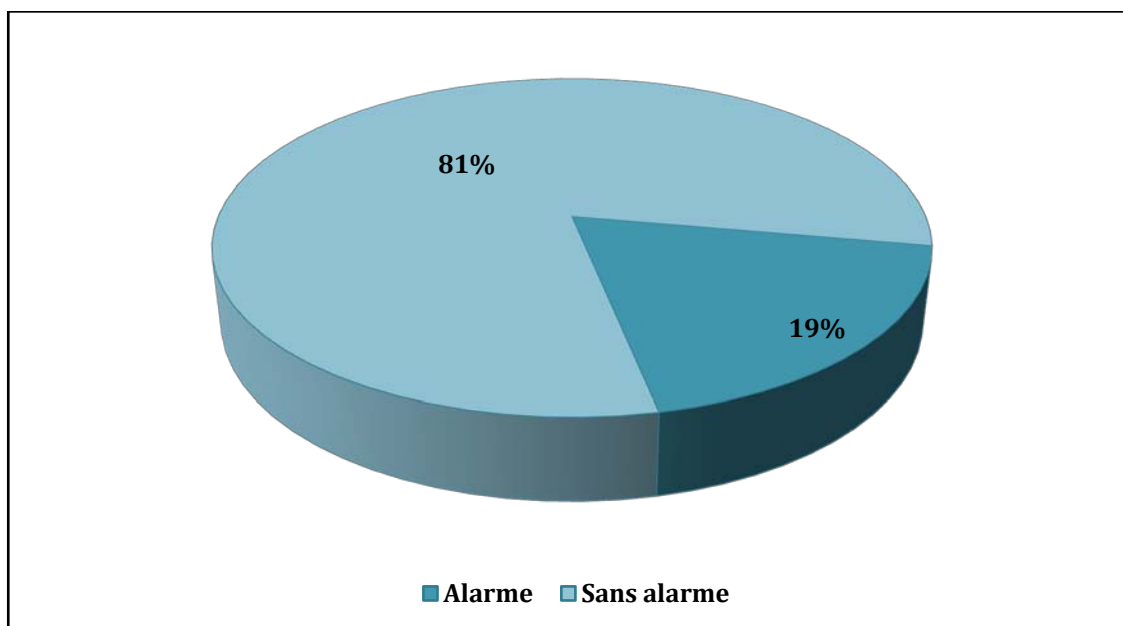
## II. Etude des alarmes des différentes lignées cellulaires

### 1. Lignée rouge

#### 1.1. Alarme « microcytose »

- NFS

Dans notre série, 19 échantillons (19%) présentaient une formule avec alarme « microcytose ».



**Graphique 5 : Répartition des alarmes « microcytose ».**

- Frottis

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « microcytose » (19% des cas) révélait quatre types d'anomalies : une microcytose avec anisocytose à 42,2% des cas (8 échantillons), une microcytose dans 31,5% des cas (6 échantillons), l'association d'une microcytose avec une anisopoikilocytose et des annulocytes dans 21% des cas (4 échantillons), des annulocytes dans 5.26% des cas (1 échantillon).

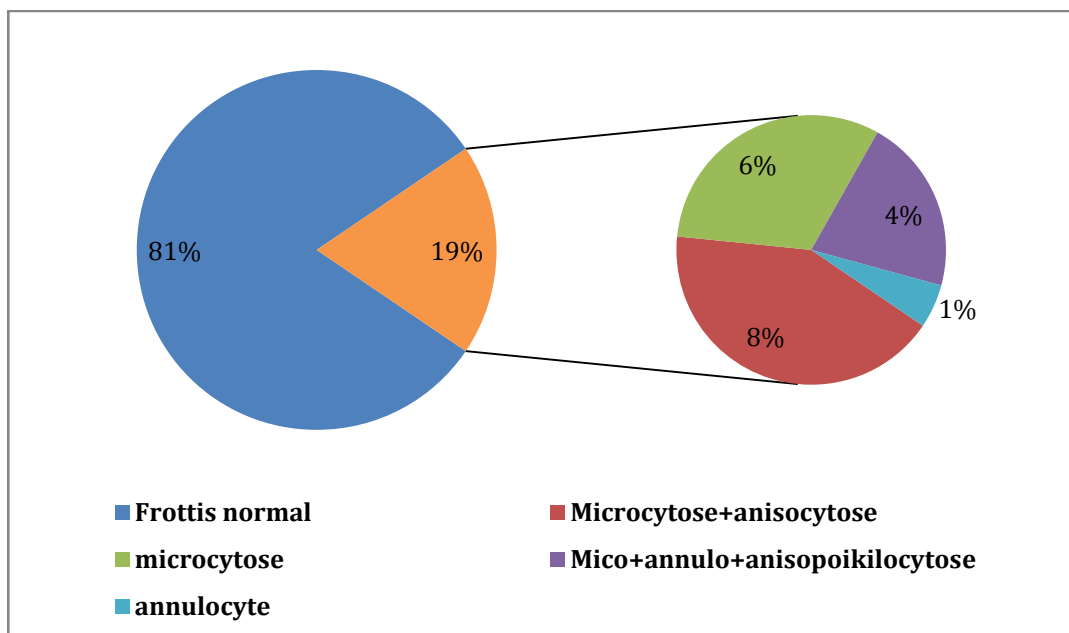
**Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate**

- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « microcytose » (81 soit 100% des échantillons sans alarme) n'a rien révélé. (Tableau IV)

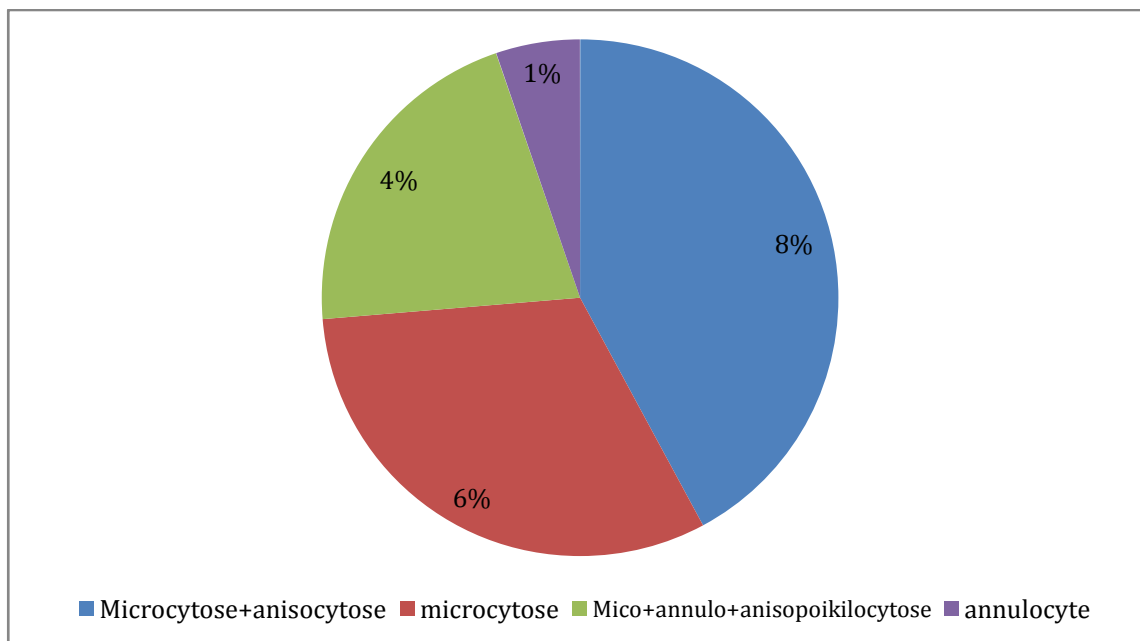
**Tableau IV : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du Frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	81	81%	Normal	81	100%
Avec alarme	19	19%	Microcytose+anisocytose	8	42,2%
			Microcytose	6	31,5%
			Mico+annulo+anisopoikilocytose	4	21%
			Annulocyte	1	5,26%

Les alarmes « microcytose » et « anisocytose » étaient déclenchées en association dans 8% des cas (8 échantillons) avec une concordance de 100% (8 échantillons).



**Graphique 6 : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons.**



**Graphique 7:** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « microcytose ».

- **Concordance de l'alarme « microcytose »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme « microcytose » pour la totalité des échantillons était discordante dans 1%. (Tableau V)

**Tableau V :** Evaluation de la concordance des alarmes « microcytose ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	1	1%
Concordante	99	99%
Total	100	100%

- **Performance de l'alarme « microcytose »**

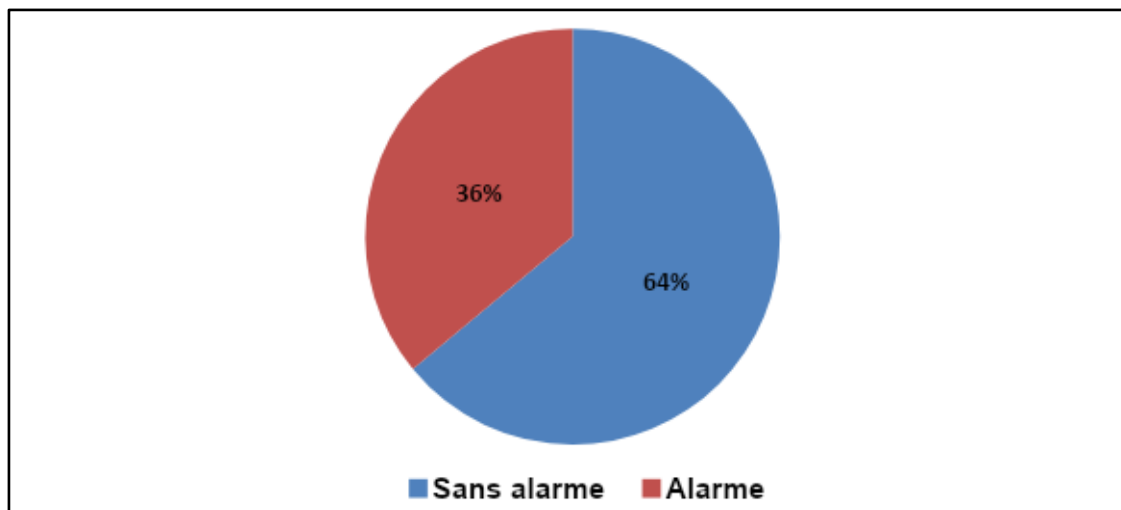
La sensibilité et la VPN étaient de 100%, la spécificité était de 98,7% et la VPP était de 94,7%.

## 2. Lignée blanche

### 2.1. Alarme « leucocytose »

- NFS

Dans notre série, 36 échantillons (36%) présentaient une formule avec alarme « leucocytose ».



Graphique 8 : Répartition des alarmes « leucocytose ».

- Frottis

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « leucocytose » révélait différentes types d'anomalies : lymphocytose réactionnelle dans 38,8% des cas (14 échantillons), leucocytose à PNN dans des 36,1% cas (13 échantillons), des plaquettes géantes dans 8,3% des cas (3 échantillons), érythroblastes dans 5,5% des cas (2 échantillons), agrégats plaquettaires dans 2,7% des cas (1 échantillon), anisocytose dans 2,7% des cas (1 échantillon), macrocytose dans 5,5% des cas (2 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « leucocytose » (64 soit 100% des échantillons sans alarmes) n'a rien révélé. (Tableau VI)

**Tableau VI : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	64	64%	Normal	64	100%
Avec alarme	36	36%	Lymphocytose réactionnelle	14	38,8%
			Leucocytose à PNN	13	36,1%
			Plaquettes géantes	3	8,3%
			Agrégats plaquettaires	1	2,7%
			Erythroblastes	2	5,5%
			Macrocytose	2	5,5%
			Anisocytose	1	2,7%

Les alarmes « leucocytose » et « érythroblastes » sont déclenchées ensemble dans 10% des cas (10 échantillons), cette association était concordante seulement dans 2% des cas (2 échantillons).

Les alarmes « leucocytose » et « lymphocytose » sont déclenchées dans 14% des cas (14 échantillons), elles étaient concordantes dans 100% des cas (14 échantillons).

Les alarmes « leucocytose » et « neutrophilie » sont signalées dans 11 % des cas (11 échantillons) avec une concordance de 100% des cas, avec deux faux négatifs de l'alarme neutrophilie.

L'association des alarmes « leucocytose » et « macrocytose » était dans 10 cas, nous avons trouvé seulement dans 2 cas une vraie macrocytose confirmée par frottis.

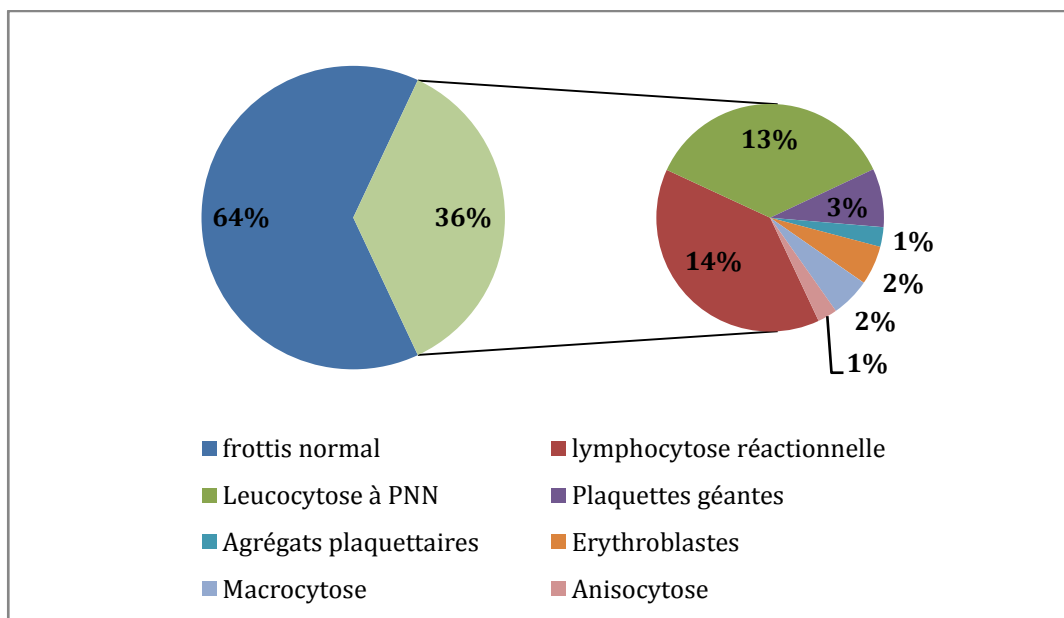
L'alarme « leucocytose » était toujours déclenchée en association avec d'autres alarmes des différentes lignées : Neutrophilie (11 cas), monocytose (7 cas), éosinophilie (6 cas),

## Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

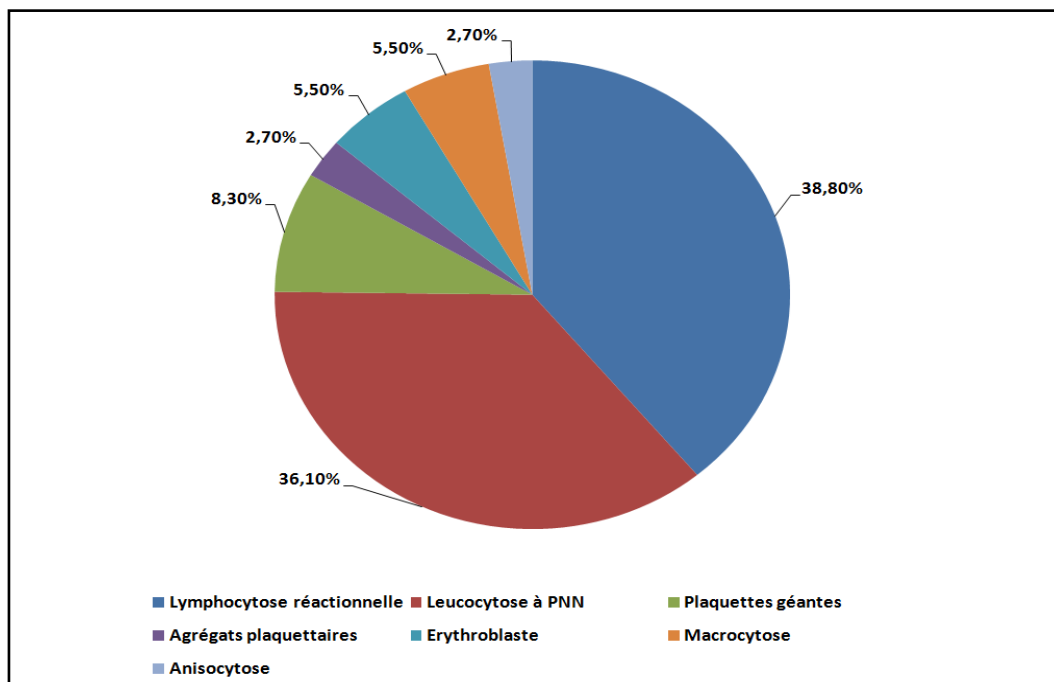
---

lymphocytose (14 cas), érythroblastes (2 cas), macrocytose (10 cas), agrégats plaquettaires (8cas).

L'association des alarmes « leucocytose » et « agrégats plaquettaires » a été signalée dans 8 cas avec une discordance de 100% (8 cas), avec un seul faux négatif.



**Graphique 9 : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.**



**Graphique 10 :** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « leucocytose ».

- **Concordance d'alarme « leucocytose »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme de la leucocytose était discordante à 9%.

(Tableau VII)

**Tableau VII :** Evaluation de la concordance de l'alarme « leucocytose ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	9	9%
Concordante	91	91%
Total	100	100%

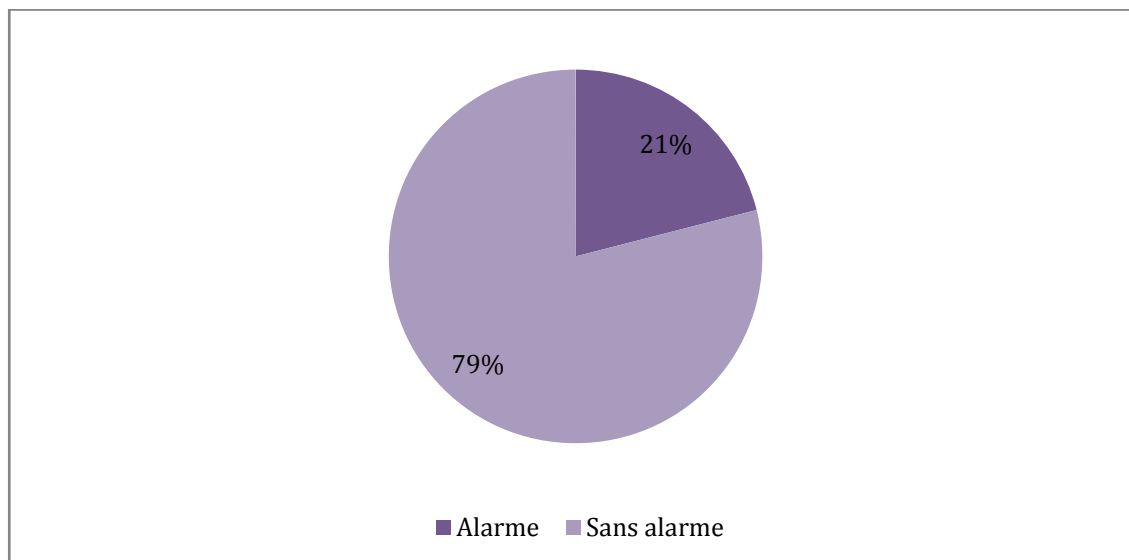
- **Performance de l'alarme « leucocytose »**

La sensibilité et VPN étaient de 100%, la spécificité était de 87,6% et VPP était de 75%.

2.2. Alarme « Lymphocytose »

• NFS

Dans notre série, 21 échantillons (21%) présentaient une formule avec alarme « lymphocytose ».



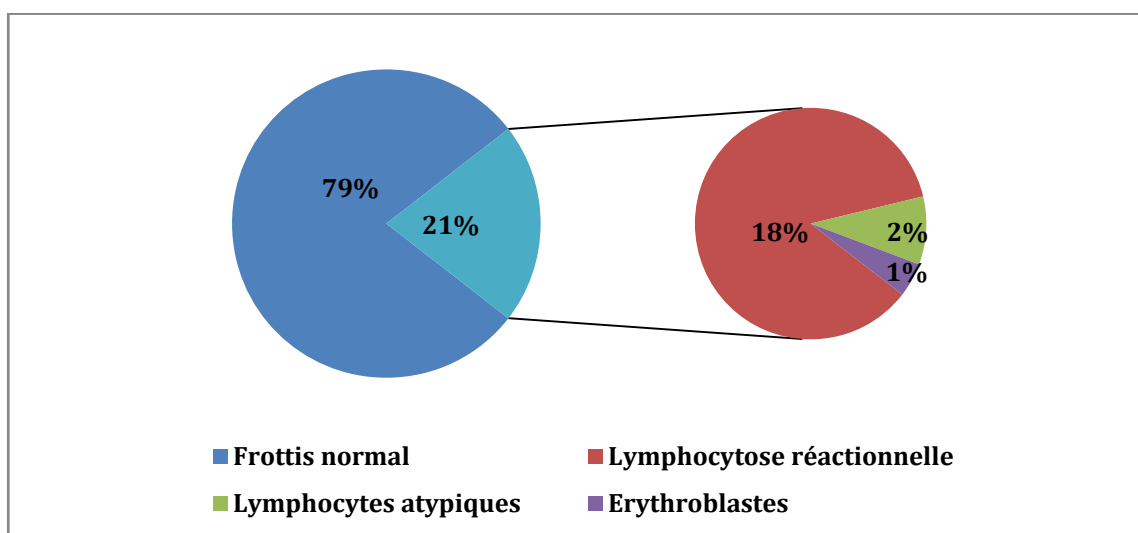
Graphique 11 : Répartition des alarmes « lymphocytose ».

• Frottis

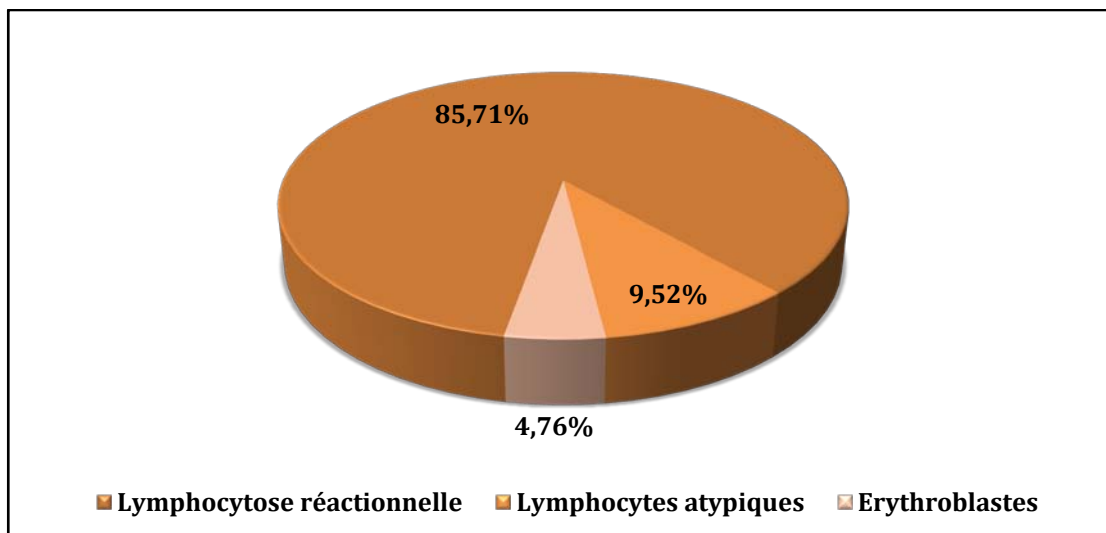
- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « lymphocytose » révélait trois types d'anomalies : une lymphocytose réactionnelle dans 85,71% des cas (18 échantillons), lymphocytes atypiques dans 9,52% des cas (2 échantillon), érythroblastes à 4,76% des cas (1 échantillon).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarmes « lymphocytose » (79 soit 100% des échantillons sans alarme) n'a rien révélé. (Tableau VIII)

**Tableau VIII : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	79	79%	Normal	79	100%
Avec alarme	21	21%	Lymphocytose réactionnelle	18	85,71%
			Lymphocytes atypiques	2	9,52%
			Erythroblastes	1	4,76%



**Graphique 12 : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons.**



**Graphique 13 :** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « lymphocytose ».

- **Concordance de l'alarme « lymphocytose »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme « lymphocytose » était discordante à 1%.

(Tableau IX)

**Tableau IX :** Evaluation de la concordance des alarmes « lymphocytose ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	1	1%
Concordante	99	99%
Total	100	100%

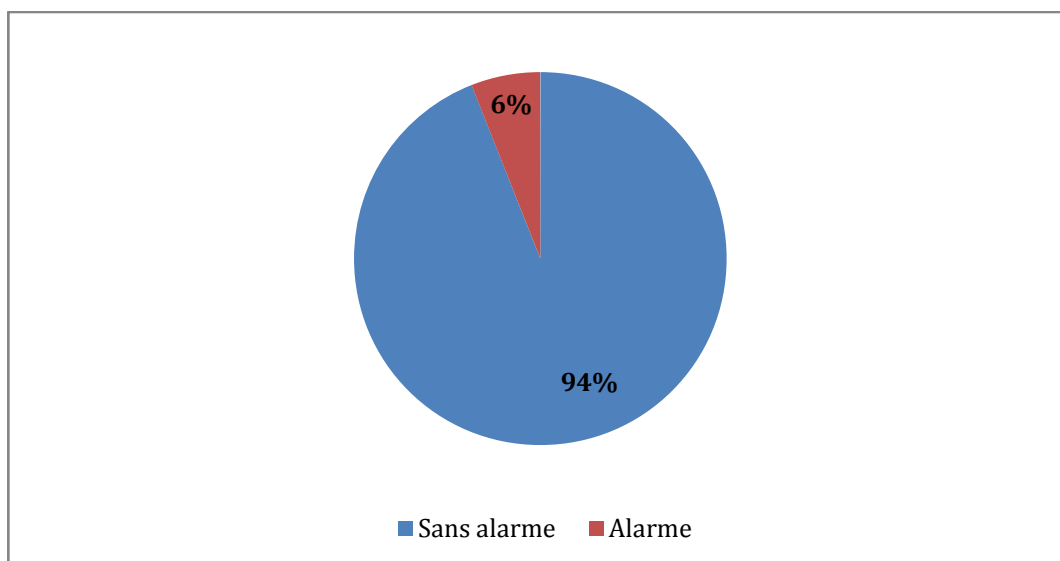
- **Performance de l'alarme « lymphocytose »**

La sensibilité et VPN étaient de 100%, la spécificité était de 98,7% et VPP était de 95%.

### 2.3. Alarme « lymphocytes atypiques »

- **NFS**

Dans notre série, seulement 6 échantillons (6%) présentaient une formule avec alarme « lymphocytes atypiques ».



**Graphique 14 : Répartition des alarmes « lymphocytes atypiques ».**

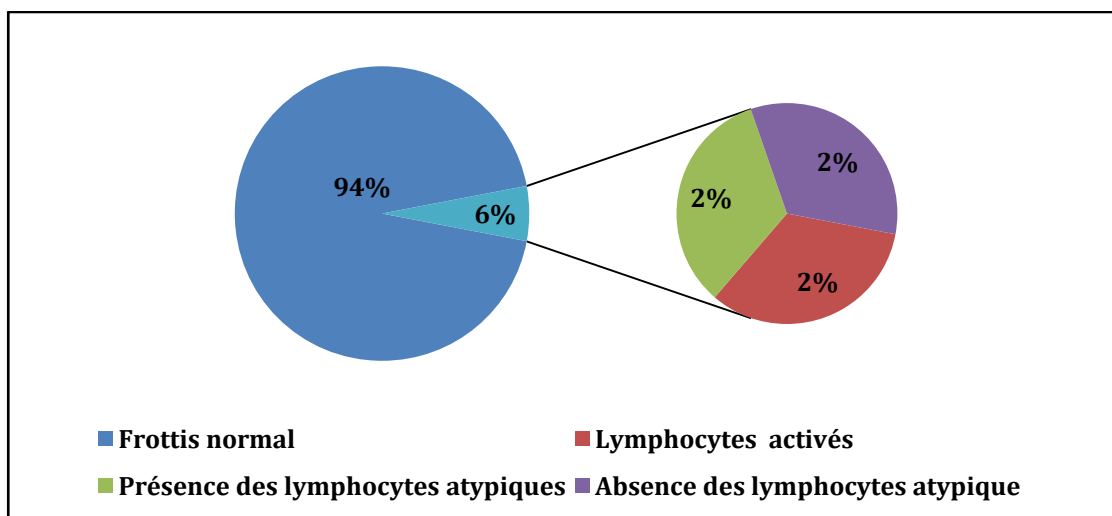
• **Frottis**

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « lymphocytes atypiques » révélait trois types des anomalies : une lymphocytose réactionnelle dans 33,3% des cas (2 échantillons), la présence des lymphocytes atypiques dans 33.3% des cas (2 échantillons), l'absence des lymphocytes atypiques dans 33.3% des cas (2 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « lymphocytes atypiques » (94 soit 100% des échantillons) n'a rien révélé. (Tableau X)

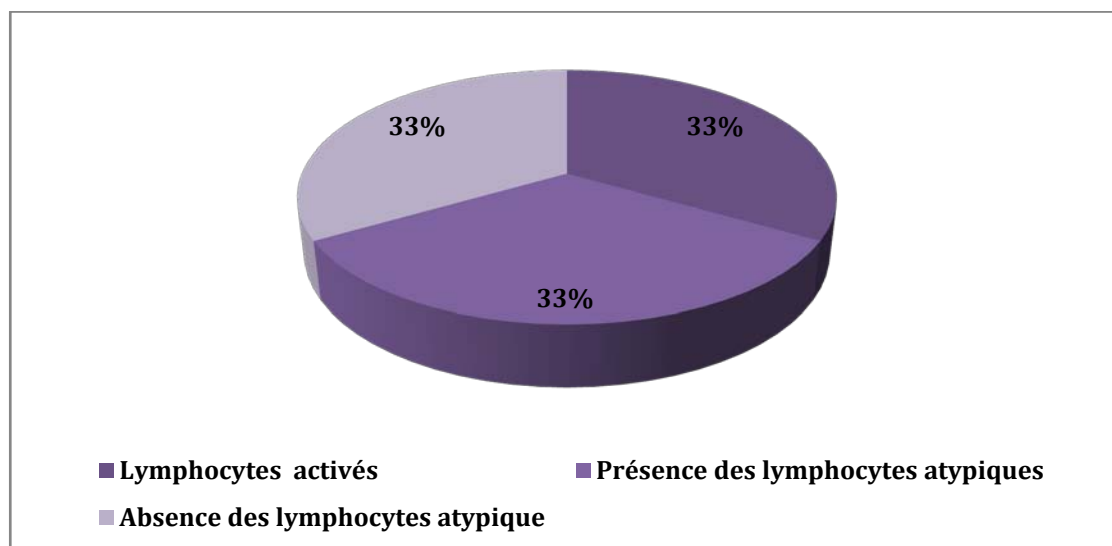
**Tableau X : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	94	94%	Normal	94	100%
Avec alarme	6	6%	Lymphocytes activés	2	33.3%
			Présence des lymphocytes atypiques	2	33.3%
			Absence des lymphocytes Atypiques	2	33.3%

L'association de l'alarme « lymphocytes atypiques » avec l'alarme « leucocytose » dans tous les 6 cas.



**Graphique 15 :** Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.



**Graphique 16 :** Frottis sanguin des échantillons avec l'alarme « lymphocytes atypiques ».

- **Concordance d'alarme « lymphocytes atypiques »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme « lymphocytes atypiques » pour la totalité des échantillons était discordante à 2%. (Tableau XI)

**Tableau XI : Evaluation de la concordance des alarmes «lymphocytes atypiques ».**

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	2	2%
Concordante	98	98%
Total	100	100%

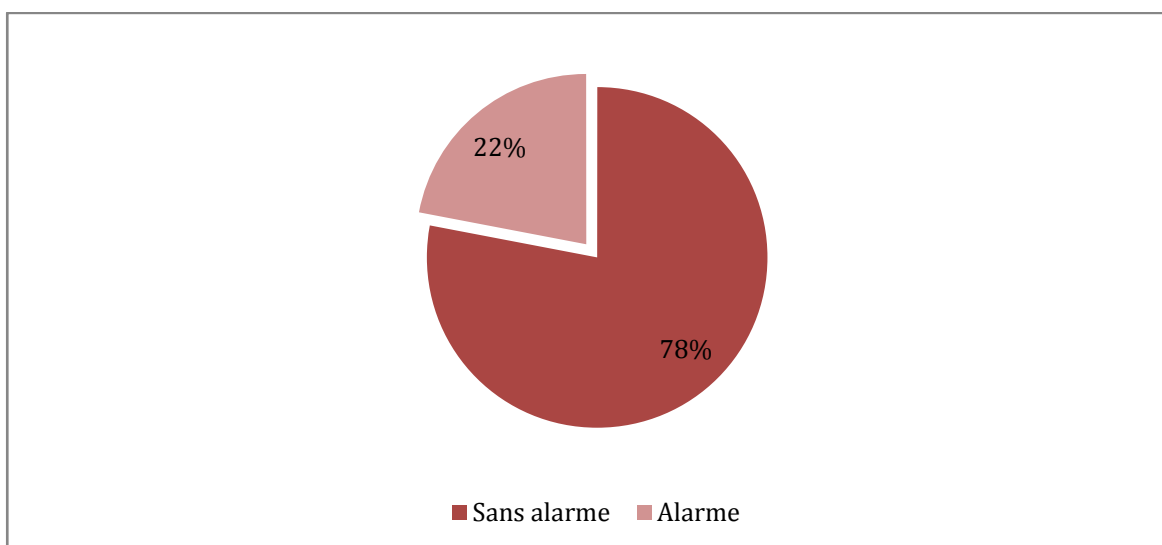
- **Performance d'alarme « lymphocytes atypiques »**

La sensibilité et la VPN étaient de 100%, la spécificité était de 95,9% et la VPP était de 33.3%.

**2.4. Alarme «granulocytes immatures»**

- **NFS**

Dans notre série, 22 échantillons (22%) présentaient une formule avec alarme « granulocytes immatures ».



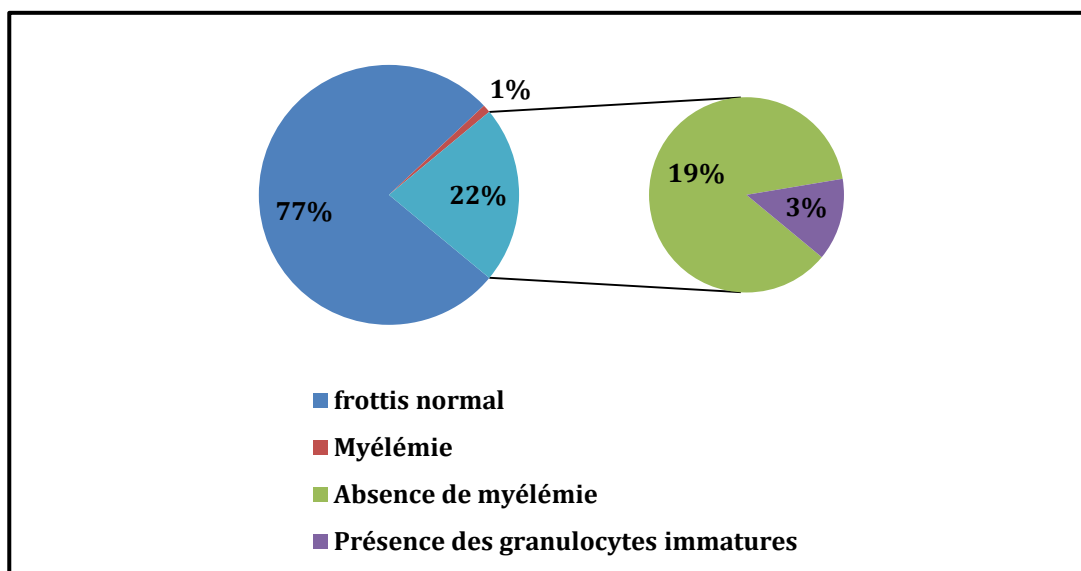
**Graphique 17 : Répartition des alarmes « granulocytes immatures ».**

- Frottis

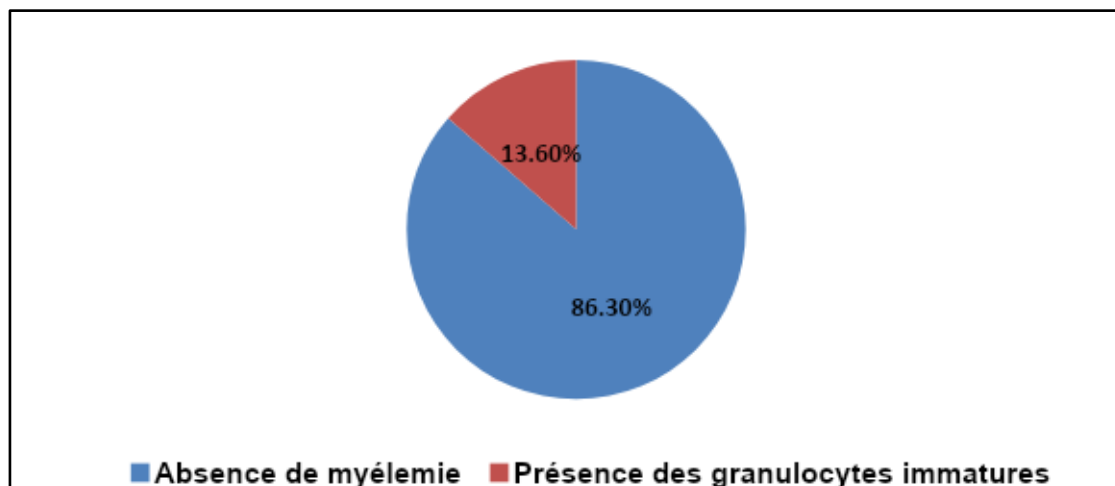
- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « granulocytes immatures » révélait : absence de myélémie dans 86,3% des cas (19 échantillons), et présence des granulocytes immatures dans 13,6% des cas (3 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « granulocytes immatures » (78 cas soit 100% des échantillons sans alarme) a trouvé une myélémie dans 1.29 % des cas (1 échantillon). (Tableau XII)

**Tableau XII : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	78	78%	Normal	77	98,1%
			Myélémie	1	1.29%
Avec alarme	22	22%	Absence de myélémie	19	86,3%
			Présence des granulocytes immatures	3	13,6%



**Graphique 18 : Résultats du frottis sanguin pour la totalité des échantillons.**



**Graphique 19 :** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « granulocytes immatures ».

- **Concordance d'alarme « granulocytes immatures »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme « granulocytes immatures » était discordante à 20%. (Tableau XIII)

**Tableau XIII :** Evaluation de la concordance des alarmes « granulocytes immatures ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	20	20%
Concordante	80	80%
Total	100	100%

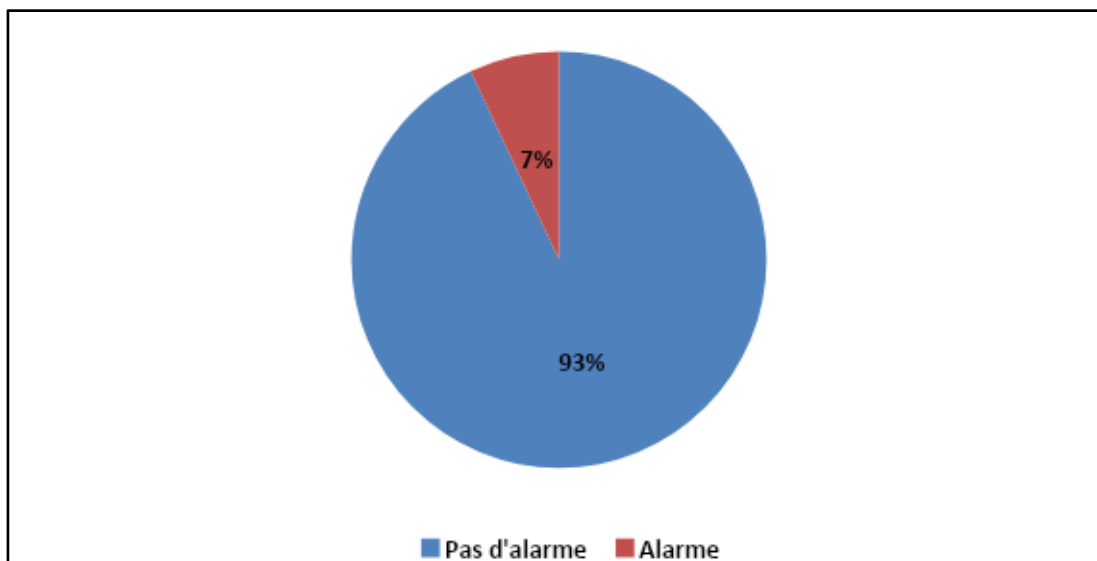
- **Performance de d'alarme « granulocytes immatures »**

La sensibilité était de 75%, la VPN était de 98,7%, la spécificité était de 80,2% et la VPP était de 13,6%.

**2.5. Alarme « blastes »**

- NFS

Dans notre série, seulement 7 échantillons (7%) présentaient une formule avec alarme « blastes ».



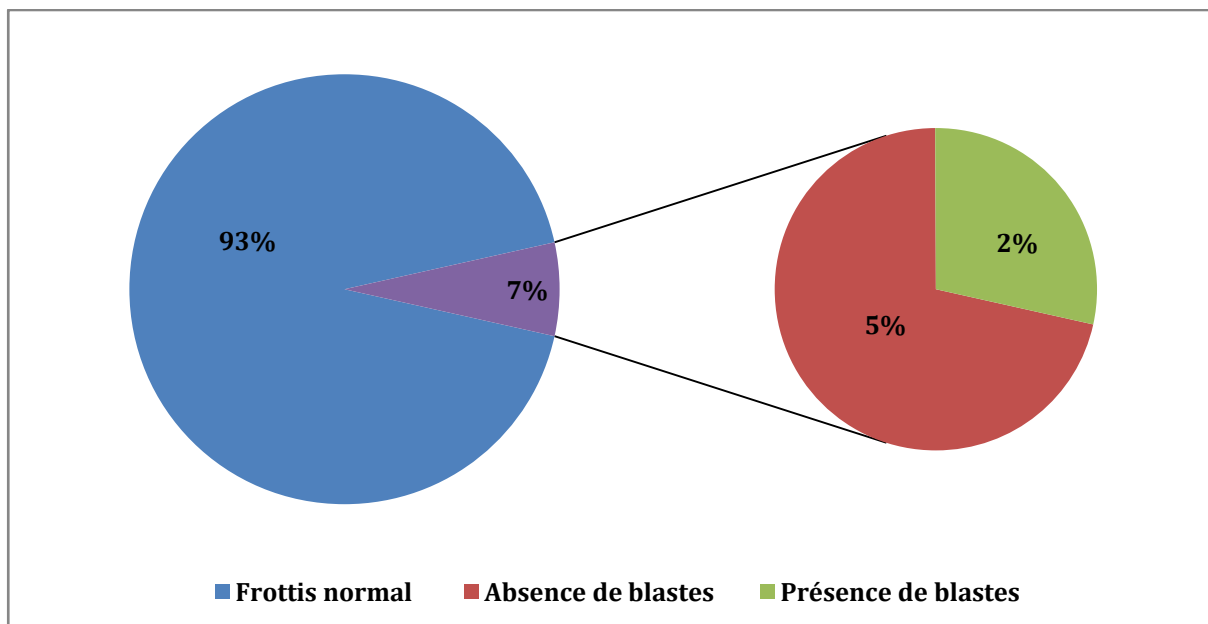
**Graphique 20 : Répartition des alarmes « blastes ».**

- **Frottis**

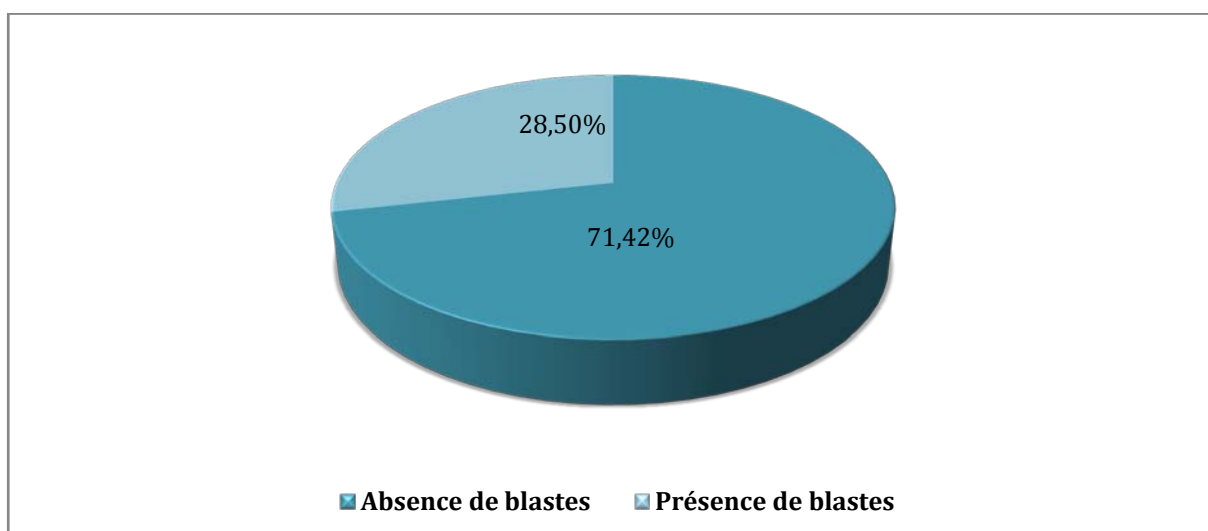
- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « blastes » révélait deux types d'anomalies: absence de blastes dans 71,4% des cas (5 échantillons), présence de blastes dans 28,5% des cas (2 échantillon).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « blastes » (93 soit 100% des échantillons) n'a rien révélé. (Tableau XIV)

**Tableau XIV : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	93	93%	Normal	93	100%
Avec alarme	7	7%	Absence de blastes	5	71.42%
			Présence de blastes	2	28.5%



**Graphique 21 :** Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.



**Graphique 22 :** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « blastes ».

- **Concordance de l'alarme « blastes »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme « blastes » était discordante à 5%. (Tableau XV)

**Tableau XV : Evaluation de la concordance des alarmes « blastes ».**

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	5	5%
Concordante	95	95%
Total	100	100%

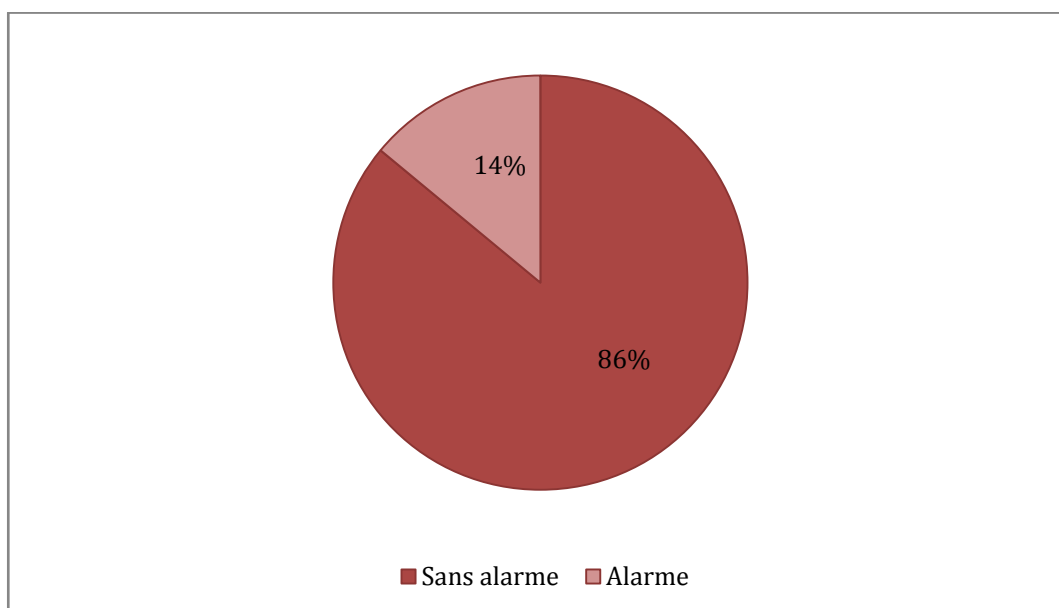
- **Performance d'alarme « blastes »**

La sensibilité et VPN étaient de 100%, la spécificité était de 94,8% et VPP était de 28,5%.

**2.6. Alarme « érythroblastes »**

- **NFS**

Dans notre série, 14 échantillons (14%) présentaient une formule avec alarme « érythroblastes ».



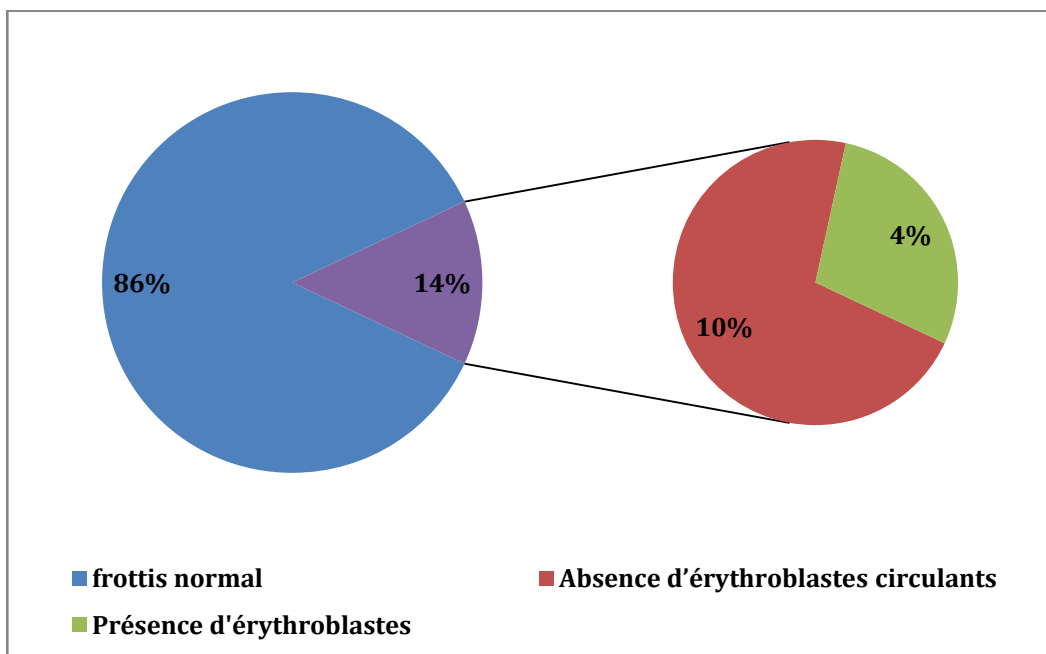
**Graphique 23 : Répartition des alarmes « érythroblastes ».**

- Frottis

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « érythroblastes » révélait deux types de résultats : absence des érythroblastes circulants dans 71,4% des cas (10 échantillons), présence des érythroblastes dans 28,5% des cas (4 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « érythroblastes » (86 soit 100% des échantillons sans alarmes) n'a rien révélé. (Tableau XVI)

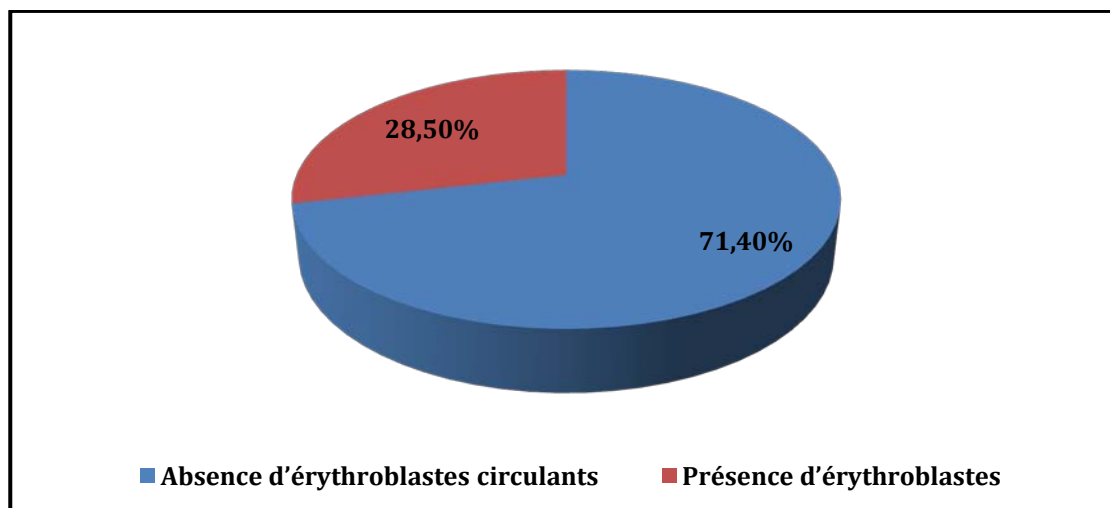
**Tableau XVI : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	86	86%	Normal	86	100%
Avec alarme	14	14%	Absence d'érythroblastes circulants	10	71,4%
			Présence d'érythroblastes	4	28,5%



**Graphique 24 : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.**

L'association d'alarmes « érythroblastes » et « granulocytes immatures » dans 7 échantillons était concordante seulement dans 1 cas. L'alarme « érythroblaste » était déclenché seule dans 4 échantillon. L'alarme « érythroblastes » était déclenchée avec alarme « déviation gauche » dans 2 cas.



**Graphique 25 :** Frottis sanguin des échantillons avec alarme « érythroblastes ».

- **Concordance de l'alarme « érythroblastes »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme était discordante à 10%. (Tableau XVII)

**Tableau XVII :** Evaluation de la concordance des alarmes « érythroblastes ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	10	10%
Concordante	90	100 %
Total	100	100%

- **Performance de l'alarme « érythroblastes »**

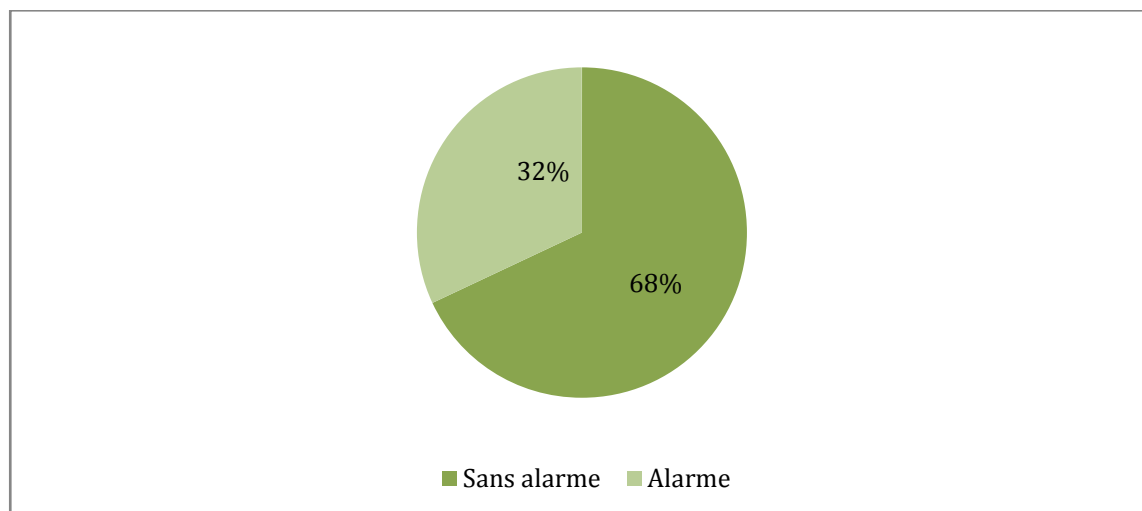
La sensibilité et VPN étaient de 100% et la VPN était de 98,8%, la spécificité était de 89,6% et la VPP était de 28,6%.

### 3. Lignée plaquettaire

#### 3.1. Alarme « thrombopénie »

- NFS

Dans notre série, 32 échantillons (32%) présentaient une formule avec alarme « thrombopénie ».

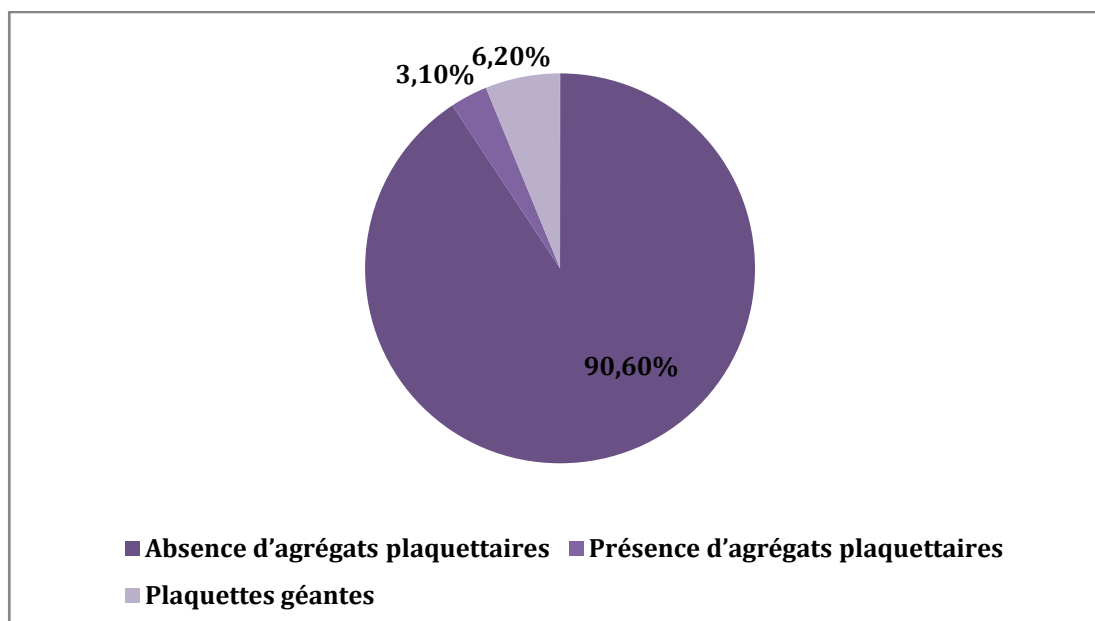


Graphique 26 : Répartition des alarmes « thrombopénie ».

- Frottis

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme « thrombopénie » révélait : absence d'agrégats plaquettaires dans 90,6 % des cas (29 échantillons), présence d'agrégats plaquettaires dans 3,1% des cas (1échantillon), des plaquettes géantes dans 6,2 % des cas (2 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « thrombopénie » (68 soit 100% des échantillons) n'a rien révélé. (Tableau XVIII)





**Graphique 28** : Frottis sanguin des échantillons avec alarme « thrombopénie ».

- **Concordance de l'alarme « thrombopénie »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme de la thrombopénie était discordante à 3%.  
(Tableau XIX)

**Tableau XIX** : Evaluation de la concordance d'alarme de thrombopénie.

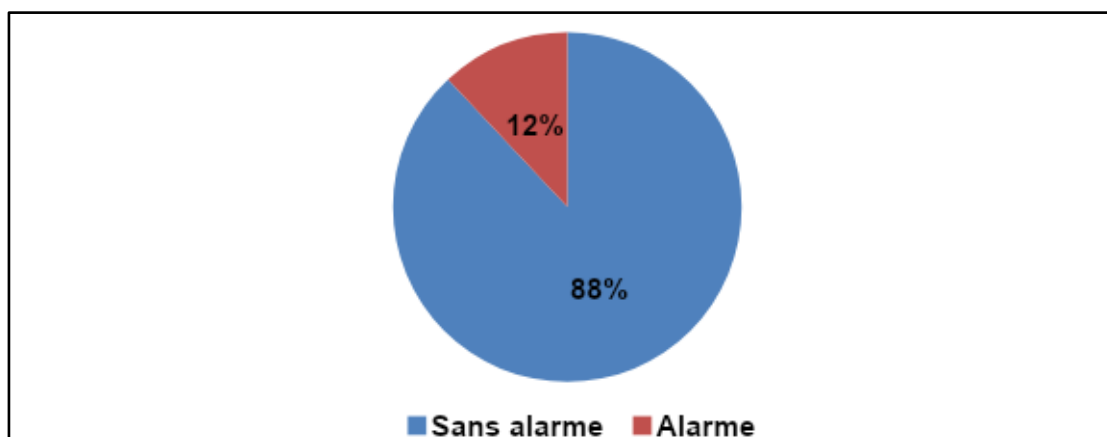
Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	3	3%
Concordante	97	97%
Total	100	100%

- **Performance de l'alarme «thrombopénie»**

La sensibilité et la VPN étaient de 100%, la spécificité était de 95,7% et VPP de 90,6%.

### 3.2. Alarme « agrégats plaquettaires»

Dans notre série, 12 échantillons (12%) présentaient une formule avec alarme «agrégats plaquettaires».



**Graphique 29 : Répartition des alarmes « agrégats plaquettaires ».**

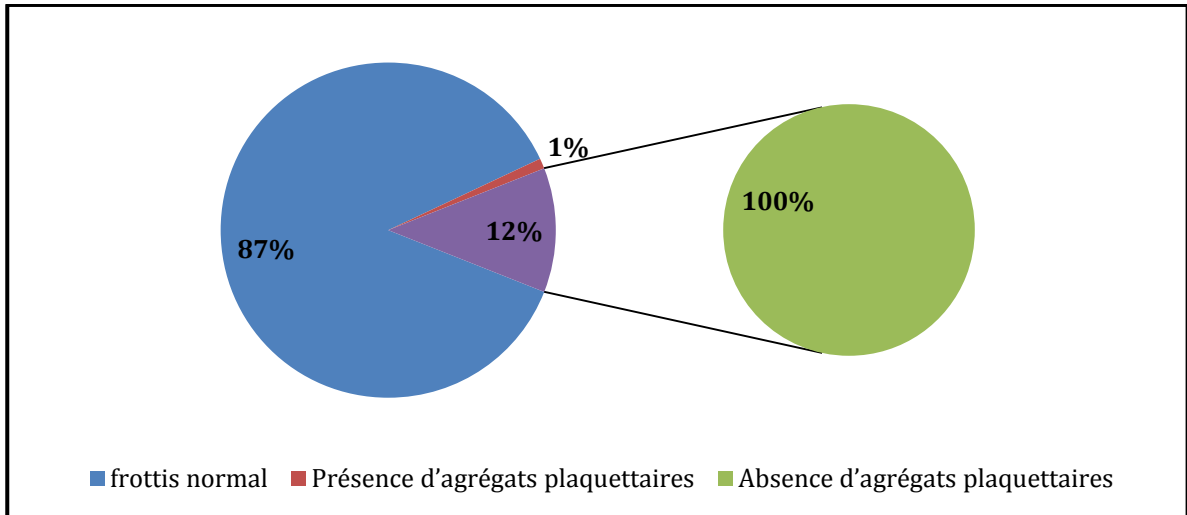
• **Frottis**

- L'examen microscopique des échantillons avec alarme d'agrégats plaquettaires révélait l'absence d'agrégats plaquettaires dans 100% des cas (12 échantillons).
- L'examen microscopique des échantillons sans alarme « agrégations plaquettaires » (88 soit 100% des échantillons sans alarmes) a révélé la présence d' agrégats plaquettaires dans 1.13% des cas (1 cas). (Tableau XX)

**Tableau XX : Répartition des résultats du frottis selon les alarmes.**

Alarme			Compte rendu du frottis		
Résultats	Nombre	Pourcentage	Résultats	Nombre	Pourcentage
Sans alarme	88	88%	Normal	87	98,86%
			Présence d'agrégats plaquettaires	1	1,13%
Avec alarme	12	12%	Absence d'agrégats plaquettaires	12	100%

L'association d'alarme « agrégats plaquettaires » avec alarme « thrombopénie » dans 6% des cas, elle était discordante à 100%.



**Graphique 30** : Résultats du frottis sanguin de la totalité des échantillons.

- **Concordance d'alarme « agrégats plaquettaires »**

Après la réalisation du frottis, l'alarme d'agrégats plaquettaires pour la totalité des échantillons était discordante à 13%. (Tableau XXI)

**Tableau XXI** : Evaluation de la concordance des alarmes « agrégats plaquettaires ».

Alarme	Nombre	Pourcentage
Discordante	13	13%
Concordante	87	87%
Total	13	100%

- **Performance d'alarme « agrégats plaquettaires »**

La sensibilité était de 0%, VPN était à de 98,86%, la spécificité était de 88 % et la VPP était de 0%.

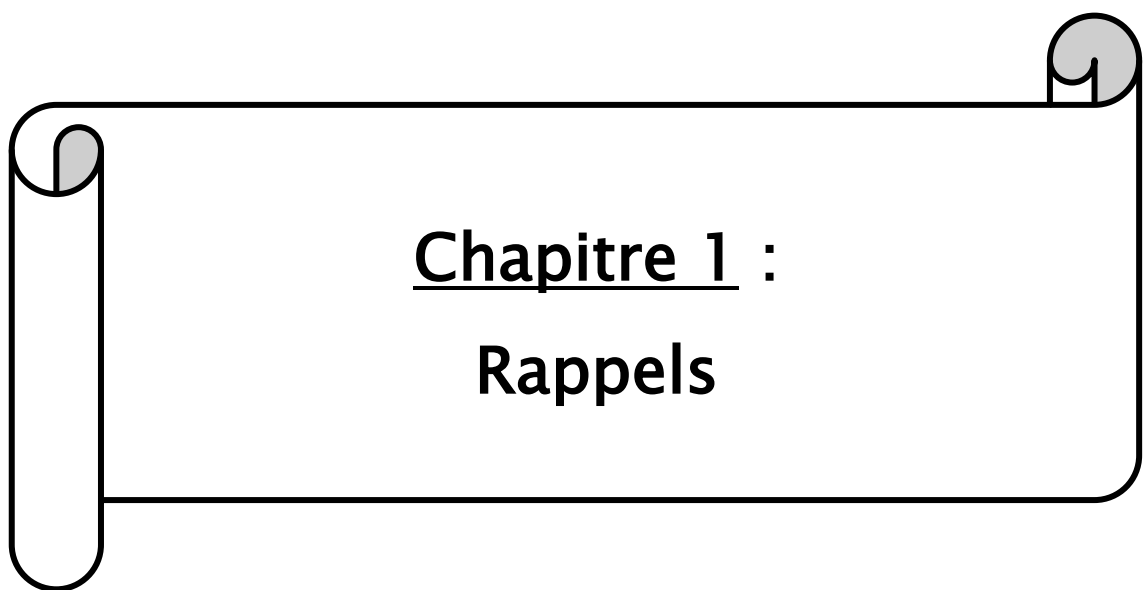
Tableau XXII : Récapitulation comparative de la performance de chaque alarme.

Messages de suspicion	Alarmes de l'automate	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
Microcytose	Microcytose	100	98,7	94,7	100
Leucocytose	Leucocytose	100	87,6	75	100
Lymphocytose	Lymphocytose	100	98,7	95	100
Lymphocytes atypiques	Lympho Aty	100	95,9	33,3	100
Granulocytes immatures	Gra. Immature Présence IG	75	80,2	13,6	98,7
Blastes	Blasts	100	94,8	28,5	100
Erythroblastes	NRBC	100	89,6	28,6	100
Thrombopénie	Thrombocytopénie	100	95,7	90,6	100
Agrégats plaquettaires	Aggrég.PLQ	0	88	0	98,86



# *DISCUSSION*





**Chapitre 1 :**  
**Rappels**

## I. Rappel

La centrifugation d'un prélèvement sanguin non coagulé montre la présence des deux composantes majeures : un surnageant liquide de couleur jaunâtre qui occupe 55% du volume sanguin total appelé le plasma.

La deuxième composante est un culot cellulaire constitué par les cellules sanguines qu'on appelle aussi les éléments figurés du sang, ce sont des éléments cellulaires qui circulent librement dans le plasma.

Nous pouvons distinguer ; des cellules anucléées riches en hémoglobines qui sont les globules rouges (GR) appelés aussi hématies ou érythrocytes et les plaquettes (PLT). Les cellules nucléées impliquées dans la défense immunitaire qui sont les globules blancs appelés encore leucocytes [13].

### 1. Origine des éléments figurés du sang

#### 1.1. Hématopoïèse physiologique

L'hématopoïèse est l'ensemble des mécanismes impliqués dans la production et renouvellement des diverses éléments figurés du sang. Cette production est très finement régulée, incluant des structures privilégiées pour la croissance des cellules de l'hématopoïèse (un micro environnement spécifique), l'intervention des molécules extracellulaires (facteurs de croissance), intracytoplasmiques (récepteurs et voies de transduction du signal), et intranucléaires (facteurs de transcription et gènes spécifiques).

Il s'agit aussi d'un système cellulaire complexe qui aboutit à ajuster très précisément la production cellulaire aux conditions de base et aux différentes agressions extérieures de l'organisme (infections, hémorragies...).

#### 1.2. Compartiments cellulaires de l'hématopoïèse [14],[15]

La pérennité du système hématopoïétique est assurée par des cellules souches qui ont par définition deux fonctions, d'une part d'assurer leur propre renouvellement, d'autre part de

produire des cellules différenciées et de générer de façon stable l'ensemble des cellules du sang. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) dites multipotentes, situées dans la moelle osseuse (MO).

Les progéniteurs proviennent des cellules souches, ils ont un moindre pouvoir d'auto renouvellement, ils sont incomplètement différenciés, On distingue : les progéniteurs érythroïdes, les progéniteurs des neutrophiles, des macrophages, des éosinophiles, des basophiles, les progéniteurs mégacaryocytaires et les progéniteurs lymphoïdes.

Les précurseurs sont les premières cellules devenues morphologiquement reconnaissables. Ils ont un faible pouvoir de prolifération. La différenciation des précurseurs des globules rouges et des plaquettes est précocement acquise après le stade des cellules souches, tandis que la monocytopoïèse et la granulopoïèse restent plus longtemps communes; la lymphopoïèse est indépendante des autres lignées.

Au sein de l'hématopoïèse, on distingue la myélopoïèse, permettant la production des cellules myéloïdes (hématies, polynucléaires, monocytes, plaquettes), et la lymphopoïèse permettant la production des lymphocytes.

Les progéniteurs myéloïdes subissent de très nombreuses divisions et sont caractérisés par l'acquisition progressive d'une différenciation fonctionnelle graduelle, se manifestant par la perte progressive des potentialités jusqu'à la spécialisation dans une seule lignée (érythroïde, granuleuse, monocyttaire ou mégacaryocytaire). L'engagement d'une cellule souche dans la différenciation résulte des lois du hasard (phénomène dit stochastique), ce hasard dépendant de l'acquisition ou de la perte par ces cellules de récepteurs spécifiques pour les facteurs de croissance.

La différenciation des cellules lymphoïdes est caractérisée par l'importance des échanges intercellulaires (présentation de l'antigène). Une première différenciation très précoce se fait entre la cellule lymphoïde B (qui va participer à la réponse humorale en produisant des anticorps)

et la cellule lymphoïde T (qui va participer à la régulation de la réponse immunitaire). Les cellules lymphoïdes B se différencient successivement en lymphoplasmocytes, puis en plasmocytes et sécrètent successivement des immunoglobulines IgD et IgM puis IgG, IgA ou IgE. Les cellules lymphoïdes T se différencient principalement en cellules dites auxiliaires, en cellules tueuses ou suppressives.

L'hématopoïèse se déroule dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse chez l'adulte, foie et rate chez l'embryon), la lymphopoïèse comprend la production des précurseurs lymphoïdes qui se passe au niveau de la moelle osseuse, elle se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par la prolifération des cellules dans les organes lymphoïdes secondaires.

Les éléments figurés du sang ont des durées de vie limitées; il existe toujours un équilibre dynamique entre leur production (l'hématopoïèse et la lymphopoïèse) et leur destruction.

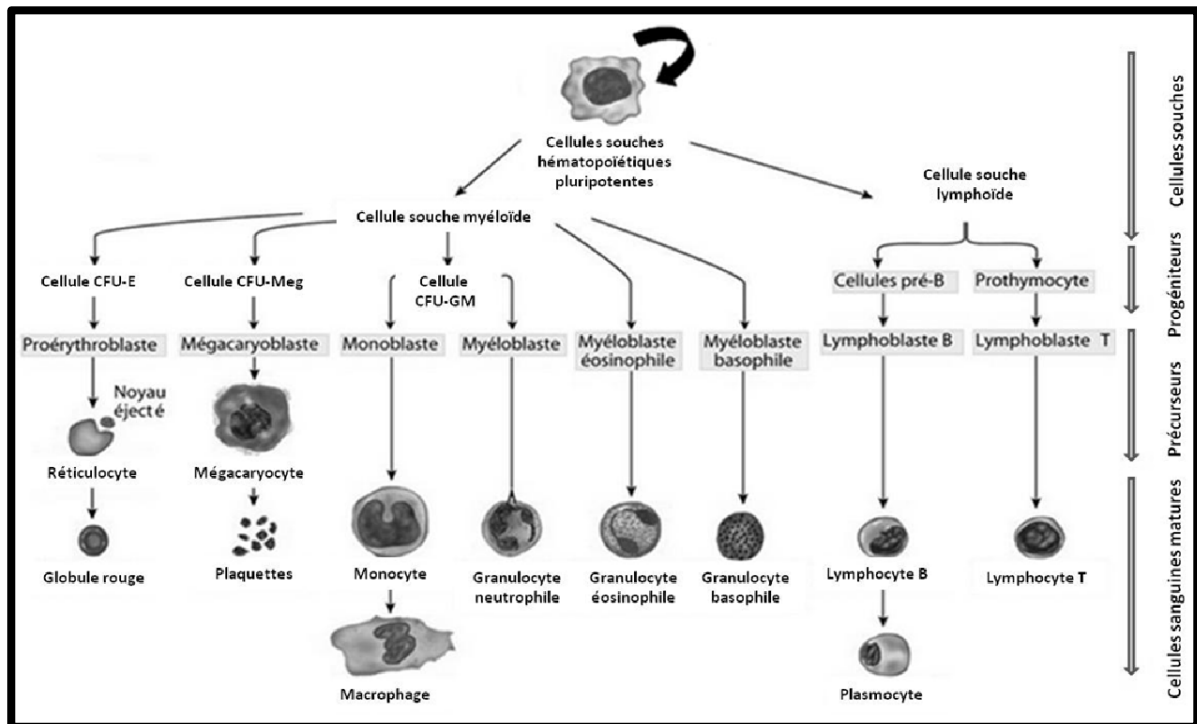


Figure 12 : Schéma de l'hématopoïèse [15].

### 1.3. Cellules sanguines [16] [17] [18]

- **Hématie**

Cellule anucléée a la fonction de transporter l'oxygène dans l'organisme. Le globule rouge a une durée de vie moyenne de 120 jours. Au cours de son vieillissement, il perd son capital enzymatique et devient vulnérable aux agressions physiques et chimiques.

Les réticulocytes sont des globules rouges jeunes, identifiables dans le sang pendant 24 heures environ, ces réticulocytes représentent donc environ 1% des globules rouges.

On distingue par ordre de maturité de croissance: le proérythroblaste, l'érythroblaste basophile, l'érythroblaste polychromatophile, l'érythroblaste acidophile, le réticulocyte, l'hématie ou globule rouge ou érythrocyte.

- **Leucocytes**

Plusieurs types de cellules nucléées circulent dans le sang, environ 1000 fois moins que les hématies en quantité.

- **Polynucléaire neutrophile (PNN)**

Les PNN constituent 50 à 70% des leucocytes du sang exercent une fonction antibactérienne par leurs propriétés de phagocytose et de bactéricide au sein des tissus infectés, leur présence dans le sang traduit leur migration vers le site de l'infection.

La différenciation des PNN au sein de la moelle osseuse comprend deux compartiments :

- Le compartiment de multiplication: le myéloblaste se divise successivement en promyélocytes, en myélocytes, puis en métamyélocytes.
- Le compartiment de maturation qui comprend les métamyélocytes et les PNN.

La durée de séjour dans le sang des PNN est de 2 jours avant leur passage tissulaire. Le temps de transit médullaire des précurseurs granuleux est de 10 à 14 jours.

- **Polynucléaire éosinophile (PNE)**

Ils sont l'une des cellules effectrices des divers types des manifestations inflammatoires allergiques et non allergiques.

Le progéniteur myéloïde pluripotent se différencie en progéniteur commun éosinophile/basophile : l'acquisition du CD125 oriente vers une différenciation éosinophile l'éosinopoïèse permettant le passage successif aux stades du myéloblaste, promyélocyte, myélocyte et métamyélocyte avant le stade de maturation final conduisant au PNE). Leur durée de séjour dans le sang est 12 à 24 heures.

- **Polynucléaire basophile**

Ils jouent un rôle dans les réactions anaphylactoïdes et l'augmentation des basophiles s'observe surtout au cours des réactions d'hypersensibilité, les hémopathies chroniques entraînent également une élévation de leur taux.

Les basophiles se développent parallèlement à la lignée neutrophile dont ils peuvent être distingués tôt au stade promyélocytaire grâce à leurs gros granules noir-violet.

Leur durée de séjour dans le sang est de 12 à 24 heures, sans passage tissulaire connu, le temps de transit médullaire serait identique à celui du polynucléaire neutrophile.

- **Monocyte**

Le monocyte est capable de phagocyter et d'éliminer les bactéries grâce à des granulations lysosomales dont le contenu est proche de celui des polynucléaires neutrophiles. Cependant, c'est au niveau des tissus, où il se transforme en macrophage.

Le monocyte a une origine médullaire à partir d'un précurseur commun avec le polynucléaire neutrophile, il a une formation médullaire rapide : environ 48 heures, et sort de la moelle encore très « immature ». Il persisterait en revanche dans le sang plus longtemps (demi-vie : 2 à 3 jours).

Les monocytes quittent le sang et se transforment dans les tissus en macrophages.

- **Lymphocyte**

Ce type de globules blancs se sous-divise en plusieurs catégories : les lymphocytes B, les lymphocytes T et les lymphocytes NK aussi appelés cellules tueuses naturelles. Les lymphocytes sont responsables de la réponse immunitaire adaptative aux pathogènes. De plus, ils gardent en mémoire les agresseurs de l'organisme pour lui assurer une immunité acquise. Plus particulièrement, les lymphocytes B fabriquent et sécrètent les anticorps.

Les lymphocytes T tiennent deux rôles : ils détruisent directement les cellules étrangères ou infectées par un pathogène en commandant leur apoptose et ils déclenchent la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Les lymphocytes NK sont impliqués dans l'élimination des cellules étrangères à l'organisme de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable.

- **Plaquette (PLT)**

Ce sont principalement des fonctions liées à l'hémostase. La durée de vie des plaquettes chez l'homme est de 7 à 10 jours.

Les plaquettes proviennent de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes localisés dans la moelle osseuse. Ceux-ci proviennent eux-mêmes de la différenciation d'une cellule souche, puis de progéniteur particuliers selon un mode de division et de maturation unique, marquée par l'endomitose.

## II. Automatisation

### 1. Historique et progrès de l'automatisation [19],[20],[6]

Le terme « automate » apparu en 1532, est défini comme étant un appareil mû par un mécanisme intérieur et imitant les mouvements de l'être humain. L'automatisation est considérée comme étape d'un progrès technique ou apparaissent des dispositifs techniques susceptible de seconder l'homme ; non seulement dans ses efforts musculaires ; mais également dans son travail intellectuel de surveillance et de contrôle.

Au début du dernier siècle, la formule sanguine complète était réalisée exclusivement par des méthodes manuelles. Les numérations cellulaires (GR, globules blancs et PLT) étaient faites à l'aide d'une plaque graduée, appelée hémocytomètre. L'hémoglobine était évaluée par une méthode colorimétrique (méthode de la cyanméthémoglobine). L'hématocrite était mesuré en centrifugeant un échantillon de sang total dans un tube gradué (tube de Wintrobe). La formule leucocytaire différentielle était calculée d'après la répartition, en pourcentage, des éléments blancs du sang dans 100 à 200 globules blancs qui se trouvaient sur un frottis sanguin coloré.

En 1932, Maxwell Wintrobe a mis au point une série d'indices érythrocytaires pour évaluer la taille des GR et leur contenu en hémoglobine. Ces indices permettaient de classer les anomalies des GR. En 1956, Walter et Joseph Coulter ont inventé, un dispositif de comptage des GR et des globules blancs. Le fonctionnement de l'appareil était basé sur une méthode qui calculait l'impédance du sang dilué dans une solution conductrice, habituellement du salin isotonique. Les cellules en suspension étaient aspirées à travers un petit orifice muni sur ses côtés de deux électrodes reliées à un courant direct. À chaque passage d'un GR (ou d'un globule blanc), une pulsation électrique se produisait.

Chaque pulsation était donc générée par un élément cellulaire. Les premiers appareils ne comptaient que les hématies et les leucocytes, la technologie ne permettant pas de compter à ce moment-là les plaquettes.

Au cours des années 1960, la mise au point des premiers compteurs cellulaires automatisés. En plus de compter les GR et blancs, ces instruments en déterminaient également la taille. Cette dernière mesure des GR donnait le volume globulaire moyen (VGM). L'hémoglobine était analysée par lyse des globules rouges et par spectrophotométrie du cyan méthémoglobine. À partir des données ci-dessus, ces appareils pouvaient calculer l'hémoglobine globulaire moyenne et la concentration d'hémoglobine globulaire moyenne, tout comme l'hématocrite. De plus, ils pouvaient également évaluer la distribution des diverses tailles de globules rouges. Les données ainsi recueillies permettaient de tracer une courbe de Gauss, et la valeur correspondant à deux écarts-types de la moyenne devenait l'indice de déviation du volume érythrocytaire (IDVE).

Au cours des années 1970, de nouveaux progrès technologiques ont permis de quantifier les plaquettes et d'évaluer leur volume. Durant la même décennie, on a élaboré des technologies basées sur la dispersion de la lumière, qui permettaient d'évaluer le nombre et la qualité des GR, des globules blancs et des PLT.

Vers la fin du siècle, plusieurs améliorations techniques ont permis d'automatiser la formule leucocytaire différentielle en cinq parties ainsi que la numération des réticulocytes. De plus, l'amélioration des microprocesseurs a grandement augmenté la rapidité et la performance des appareils.

Grâce à ces appareils, on peut répartir environ 8000 globules blancs en quelques secondes. De plus, l'évaluation par les techniques développées permet de séparer ces 8000 cellules dans les sous-groupes de leucocytes que l'on connaît. On est donc très loin du décompte manuel de 100 à 200 cellules.

En l'an 2000, cette biologie spécialisée est ainsi parvenue dans sa phase de maturité. Les systèmes automatisés permettent dorénavant d'intégrer dans des bases de données les images cytologiques numérisées, les graphes des automates d'hématologie et leurs données quantitatives, les résultats des autres techniques.

Au XXIème siècle, la pratique de l'hématologie cellulaire va encore s'améliorer. On trouve sur la lancée des principales acquisitions récentes, les nouveaux progrès : Les automates d'hématologie, de plus en plus performants, détectent de manière toujours plus précise les cellules anormales du sang périphérique.



**Figure 13** : Modèle du compteur Coulter [21].

## **2. Principe de mesure des automates [22], [3]**

Les compteurs d'hématologie ou automates d'hématologie sont des appareils plus ou moins complexes utilisés pour la réalisation d'une formule sanguine complète (quantitative et qualitative).

Il comprend la détermination des nombres absolus des globules rouges, des plaquettes; le dosage de l'hémoglobine; la mesure de l'hématocrite; le calcul des constantes érythrocytaires: VGM, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH); pour certains, la numération des réticulocytes.

Et il permet l'établissement pour les globules blancs de la formule leucocytaire donnant les pourcentages des différents types des leucocytes: PNN, PNE, polynucléaires basophiles (PNB), lymphocytes (Ly) et les monocytes (Mo).

Plusieurs compteurs cellulaires automatisés donneront des informations supplémentaires sur les globules rouges (anisocytose, hypochromie, etc.). De plus, ces appareils émettent des signaux d'alerte lorsqu'ils ne peuvent réaliser certains décomptes ou lorsque la morphologie des éléments sanguins n'est pas celle qui était prévue par la programmation initiale.

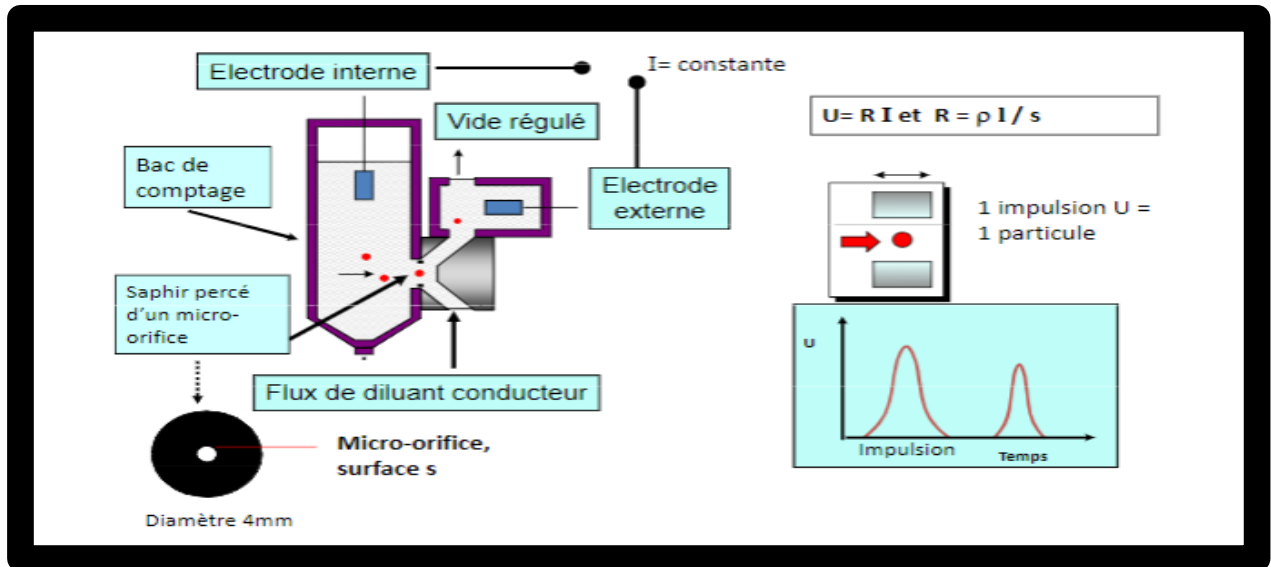
Les formules sanguines contenant des résultats anormaux devront être évaluées par une autre technique, Habituellement sur un frottis sanguin standard réalisée par un hématologue qui fera une interprétation diagnostique des anomalies décelées.

D'autres progrès technologiques restent à venir. Des méthodes histochimiques ou immunologiques pourront s'ajouter aux fonctions actuelles. Ces nouvelles techniques donneront des formules encore plus précises.

### **3. Techniques de mesure des compteurs d'hématologie**

- **Variation de l'impédance [23]**

Appelé encore principe « Coulter » du nom de son inventeur. C'est la méthode de référence; l'appareil utilise les variations d'une résistance électrique afin de déterminer la taille des cellules sanguines, les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. De plus un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire.



**Figure 14** : Principe de mesure par la variation d'impédance : La valeur de l'impulsion  $U$  est proportionnelle au volume cellulaire [24].

Ces instruments permettent d'éviter les artefacts en utilisant les techniques suivantes [24] :

- Le tri des impulsions : Les impulsions générées sont triées de façon à ne garder que celles correspondant à un passage standard.
- Le flux de balayage (sweep flow) : un flux de diluant balaie l'arrière des orifices, empêchant les cellules de retourner dans la zone de détection et de perturber l'analyse (surtout pour les plaquettes).
- La correction de coïncidence : lorsque deux cellules traversent simultanément l'orifice, elles ne génèrent qu'une seule impulsion de forte intensité : c'est le passage en coïncidence, il est une loi statistiquement prévisible, et la correction est effectuée automatiquement par l'analyseur.

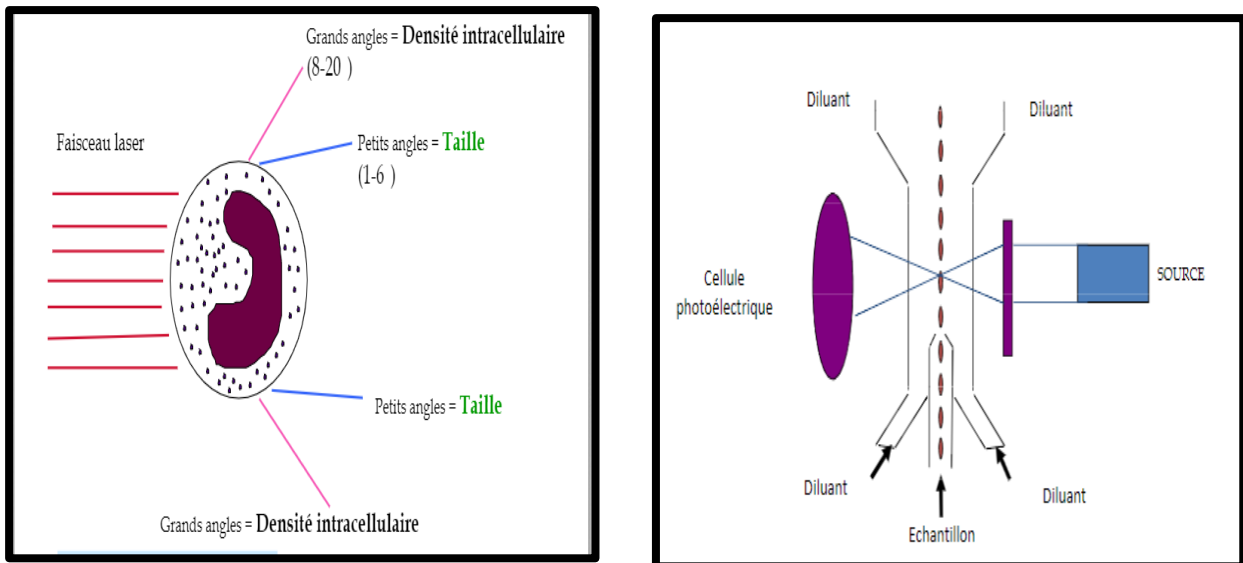
Les cellules sont classées en fonction de leur volume dans différents canaux, ce qui permet la construction des histogrammes érythrocytaire et PLT. Un nombre élevé de canaux traduit avec précision la réalité.

- **Cytométrie de flux par diffraction laser [25]**

Décrit une technique d'analyse de routine des cellules ou particules biologiques en suspension qui traversent une cellule de mesure les unes après les autres. Un ou plusieurs lasers excitent chaque particule ainsi injectée. Si les particules ont été marquées avec un ou plusieurs fluorochromes, la source lumineuse excite ceux-ci et nous informe sur certains aspects biologiques supplémentaires ; le cytomètre mesure la lumière de fluorescence et la lumière diffusée. Grâce à ces phénomènes de diffusion lumineuse il caractérise les cellules selon: la taille (dans l'axe du laser), la granularité (à 90° du laser), la fluorescence.

Les signaux optiques recueillis ont une intensité corrélée avec des propriétés cellulaires. La lumière diffusée renseigne sur la morphologie et la structure de la cellule. Si la diffusion de la lumière est mesurée dans l'axe du rayon incident, l'intensité du signal peut être corrélée avec la taille et la viabilité cellulaire. Sous un angle de 90°, la mesure correspond à la structure intracellulaire de la cellule (réfringence du cytoplasme, morphologie, rapport nucléocytoplasmique) ; l'utilisation simultanée de ces deux paramètres permet de distinguer dans un sang périphérique par exemple, les plaquettes, les lymphocytes, les monocytes et les polynucléaires. La lumière absorbée évolue proportionnellement au diamètre de la cellule (supposée sphérique) et à l'indice d'absorption des constituants cellulaires.

La fluorescence émise peut être spontanée, mais le plus souvent, elle est apportée à la cellule par un fluorochrome qui absorbe l'énergie du laser et réémet l'énergie absorbée par vibration et dissipation de chaleur, émission de photons d'une longueur d'onde plus élevée.



**Figure 15** : Diffraction lumineuse La cellule passe individuellement devant un faisceau lumineux conventionnel [24].

Les valeurs numériques issues des convertisseurs sont stockées par l'informatique et présentées sur les écrans des cytomètres sous formes [25] :

- Des histogrammes monoparamétriques où l'axe des abscisses représente l'intensité du signal analysé et l'axe des ordonnées le nombre des cellules.
- Des histogrammes biparamétriques ou cytogrammes présentant deux signaux simultanément.

Ou bien sous forme des représentations : de la taille et de la granulosité « Dot Plot ». Pour chaque cellule qui passe, sa taille est analysée par rapport à sa granulosité.

C'est un bon moyen de détecter un petit nombre d'évènements dont les populations sont clairement séparées, autre de la densité relative des évènements « Density Plot » ; cette représentation simule une représentation en 3D où le troisième paramètre est le nombre d'évènements. Cela permet à l'utilisateur de mettre en évidence une population discrète. Et la représentation graphique représente la fluorescence relative par rapport au nombre des évènements.

- **Analyse par cytochimie: réaction des peroxydases [3]**

Elle repose sur la mise en évidence de la peroxydase contenue dans les granulations primaires de certains leucocytes. Les lymphocytes sont négatifs pour cette réaction. En présence d'eau oxygénée et d'un substrat (4-chloro-1-naphtol), l'action de la peroxydase cellulaire est révélée par un précipité coloré qui sera analysé par absorption lumineuse.

Au cours de la recherche de l'activité myéloperoxydasique in situ (MPO) ; les lymphocytes sans peroxydase ne sont pas colorés, les monocytes sont faiblement colorés, et les granulocytes neutrophiles sont fortement colorés.

- **Analyse par un courant à haute fréquence [3]**

Un courant de haute fréquence est appliqué simultanément au courant continu sur deux électrodes, le passage d'une cellule crée une différence de potentiel qui est fonction du degré de conductivité cellulaire donnant ainsi des indications sur le contenu du cytoplasme et la structure du noyau.

- **Lyse chimique [3]**

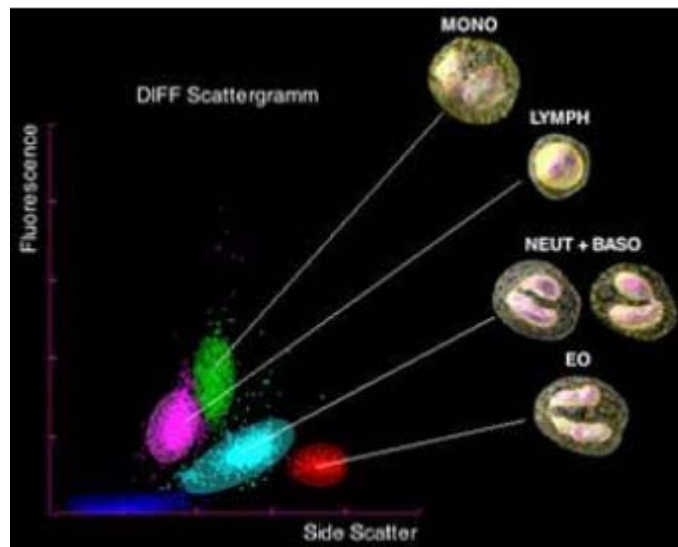
Des procédés de lyse sont appliqués à la numération des polynucléaires basophiles sur certains instruments. Cette lyse détruit la membrane des leucocytes et les réduit à leur noyau à l'exception des basophiles qui conservent leur membrane et leur cytoplasme et sont ainsi identifiés puis énumérés par leur taille. D'autres réactifs de lyse réagissent préférentiellement avec la membrane des granuleux les plus matures, sélectionnant ainsi les populations plus immatures.

- **Cytométrie de flux par fluorescence [6]**

Différencie les cellules en se basant sur leur concentration en acide nucléique, leur structure interne ou leur complexité.

L'échantillon est exposé à un colorant fluorescent qui se lie à l'ARN et l'ADN intracellulaires. L'intensité du signal fluorescent est proportionnel à la concentration d'ARN/d'ADN de chaque cellule. En outre, la différenciation atteint un degré élevé d'exactitude grâce au logiciel offrant un système d'analyse cluster adaptative (ACAS). Ceci garantit que chaque population cellulaire forme un cluster distinct avant que les événements soient identifiés comme appartenant à une sous-catégorie de cellule.

D'autres systèmes utilisent un portillonnage fixe pouvant générer le comptage, dans un groupe incorrect, de certaines cellules, en particulier dans le cas d'échantillons pathologiques, pour ces applications sont : la différenciation des leucocytes en 5 populations: lymphocytes, monocytes, neutrophiles, éosinophiles et basophiles. Aussi l'identification des cellules immatures grâce au principe selon lequel leur concentration en acide nucléique est supérieure à celle des cellules matures, en plus la numération des granulocytes immatures inclut les promyélocytes, les myélocytes et les métamyélocytes mais pas les granulocytes non segmentés. Et l'identification qualitative des cellules immatures et anormales grâce à un système d'alarme.



**Figure 16 : Scatter des populations leucocytaires [24].**

- **Marquage spécifique [6]**

Les cellules hématopoïétiques sont très bien caractérisées par les marqueurs (antigènes) qu'elles portent à la surface de leur membrane. Ces antigènes de surface permettent de définir l'appartenance d'une cellule à une lignée hématopoïétique et également son stade de différenciation et d'activation.

Les dernières innovations en hématologie viennent d'ailleurs de l'utilisation des nouveaux marqueurs, visant ces antigènes de membranes, permettant des détections toujours plus précises des sous-populations cellulaires ; les applications d'immunomarquage cellulaire réalisables sont :

- Numération des plaquettes par immunomarquage pour une meilleure prise en charge des thrombopénies profondes.
- Numération des sous populations lymphocytaires CD 3/4/8 pour une meilleure prise en charge des patients séropositifs pour le VIH.

Par ailleurs certain automate propose un mode spécialisé ouvert à l'utilisation d'anticorps monoclonaux pour d'autres applications de typage cellulaire par une méthode simple et rapide: la technique de comptage des hématies fœtales rhésus D+ dans le sang maternel rhésus D - (anticorps anti D+ BRAD 3 FITC) ,typage d'hémopathies lymphoïdes (CD5/CD19),et dosage de l'antigène de surface CD 64 dans le diagnostic du sepsis.

#### **4. Application à la numération des éléments du sang**

##### **4.1. Analyse de la lignée rouge [3], [24], [26]**

- **Numération des hématies ou GR**

Les hématies sont dénombrées par mesure d'impédance ou par diffraction laser, le comptage et mesure du volume font à partir d'une suspension cellulaire.

Toute particule d'un volume mesuré entre 24 et 36 femtolitres (fl) réparties en 256 canaux est comptée comme un globule rouge.

Les impulsions sont triées pour retenir celles correspondant au passage standard. Une fourchette de répartition des volumes est extrapolée à partir de l'image des impulsions. Histogramme dessiné fournit des indications sur la quantité et la taille des cellules sanguines mesurées et leur répartition autour de la moyenne. Les discriminateurs permettent à l'appareil de différencier les thrombocytes et les érythrocytes en fonction de leur taille.

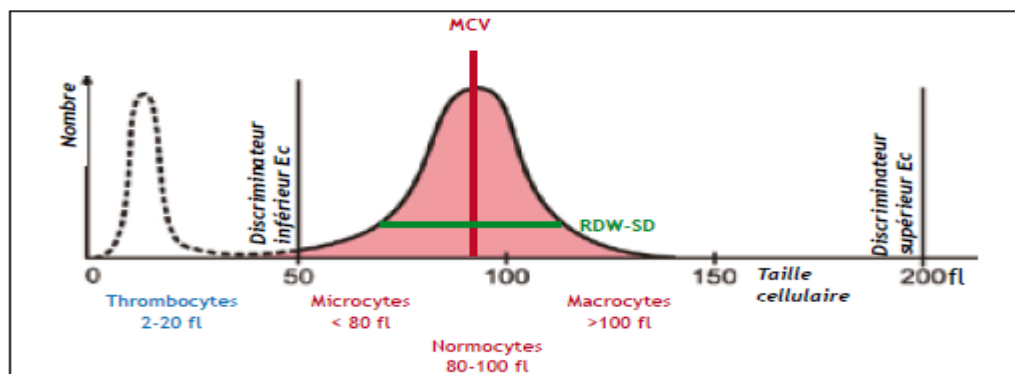


Figure 17 : Histogramme érythrocytaire [26]

- **Dosage de l'hémoglobine**

La plupart des automates dosent l'hémoglobine après la lyse des hématies en utilisant des réactifs, la concentration en hémoglobine est quantifiée par colorimétrie en utilisant un photomètre à filtre.

- **VGM**

Le VGM des hématies correspond classiquement au rapport entre le volume total des hématies (représenté par l'hématocrite) et le nombre des hématies. Il est exprimé en fl.

Le plus souvent, il est mesuré directement par les automates (moyenne des VGM mesurés), parfois il est dérivé de l'hématocrite (intégration des hauteurs de l'ensemble des impulsions mesurées) et du nombre des hématies.

Lorsque le VGM est mesuré par impédance, l'amplitude de l'impulsion dépend de la taille mais également du contenu en hémoglobine, ainsi une hématie « vide » (hypochrome) sera plus déformable et aura un volume apparent plus faible qu'en réalité.

Le VGM peut également être mesuré par diffraction laser et après sphérisation des hématies, ce qui évite le phénomène de déformabilité.

- **Hématocrite**

L'hématocrite est généralement calculé par les automates à partir du nombre et du volume des hématies mesurés par impédance ou diffraction laser. La valeur déterminée par un automate est légèrement plus faible que celle obtenue par mesure directe après centrifugation qui ne peut éliminer la présence d'une petite quantité de plasma résiduel entre les hématies. Il est exprimé en l/l (unités internationales) ou en % (unités conventionnelles).

- **TCMH**

Cet indice est parfois exprimé différemment selon les appareils. Il est habituellement calculé et non mesuré directement. Il est donné en picogrammes. Il s'agit donc une unité de poids.

- **CCMH**

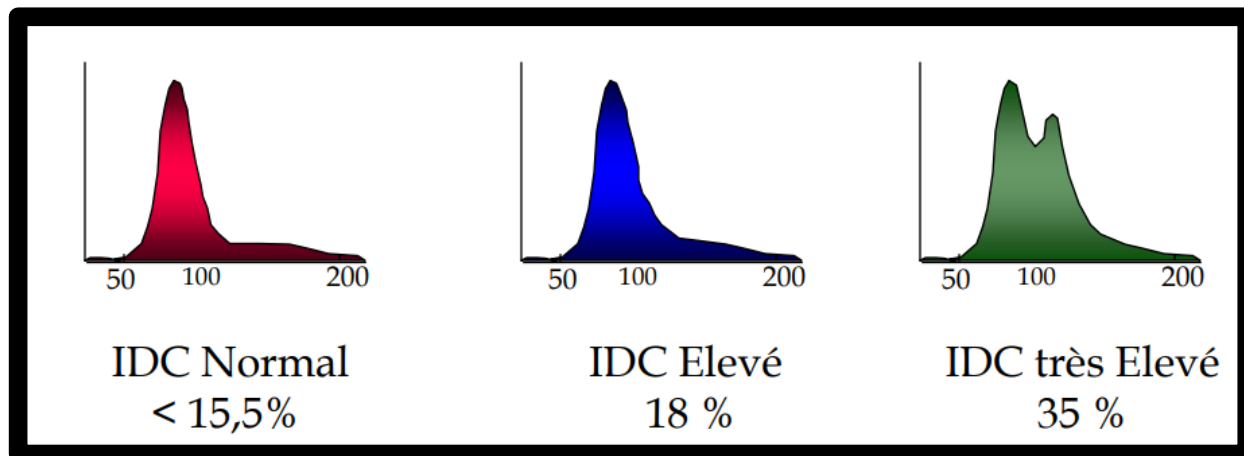
Est calculée selon la formule suivante hémoglobine/hématocrite soit hémoglobine/VGM x GR si l'automate calcule l'hématocrite. Elle est exprimée en g/dL.

Certains automates utilisant la diffraction laser mesurent la concentration en hémoglobine pour chaque hématie, en même temps que le VGM, et en donnent une courbe de répartition pour la population érythrocytaire.

- **Indice de distribution du volume des hématies**

Il s'agit du coefficient de variation de la distribution des hématies selon leur volume.

Cet indice témoigne lorsqu'il est modérément élevé d'une anisocytose globulaire ; un indice très élevé signifie des anomalies importantes (double population, schizocytes, drépanocytes).



**Figure 18** : Indice de distribution du volume des hématies [24].

#### . Indice de distribution de la concentration en hémoglobine des hématies

Cet indice n'est fourni que par les automates qui déterminent une concentration en hémoglobine pour chaque hématie. Il correspond à l'écart type de la distribution de la concentration en hémoglobine des hématies.

#### 4.2. Analyse de la lignée blanche [27]

Les analyseurs d'hématologie automatiques pouvant différencier les leucocytes sont devenus une chose courante dans les laboratoires d'hématologie de routine. Ces analyseurs sont classés en deux grandes catégories: les analyseurs différentiels en 3 populations et ceux en 5 populations.

La fonction de différenciation en 3 populations des analyseurs d'hématologie automatique se basent sur la technologie de l'impédance afin de compter et de séparer les leucocytes en fonction de leur taille. Les érythrocytes sont lysés à l'aide de réactifs chimiques tandis que les leucocytes restent intacts.

Les analyseurs différentiels automatiques en 5 populations combinent à divers degrés impédance volumétrique, énergie électromagnétique de haute fréquence et techniques de colorations optiques et cytochimiques.

La supériorité des analyseurs différentiels en 5 populations pour l'analyse des individus malades est incontestable en raison des critères suivants :

- L'identification des sous-populations de leucocytes
- L'amélioration de la capacité à détecter des cellules anormales
- Système d'alarmes plus évolué

Grâce à la pertinence clinique des paramètres supplémentaires, les analyseurs en 5 populations font bien plus que fournir une numération différentielle plus complète. L'analyse des leucocytes par des paramètres physiques ou autres propres à chaque automate aboutit, après traitement informatique, à la formation de «nuages » correspondant aux différentes populations leucocytaires. L'ensemble de ces «nuages» forme un cytogramme qui permet d'établir le pourcentage de chaque population leucocytaire et donne des indications sur d'éventuelles anomalies de répartition par rapport aux critères d'analyse du logiciel. La présence de ces anomalies génère des alarmes (alarmes « constructeur ») pour alerter le biologiste.

#### **4.3. Analyse de la lignée plaquettaire**

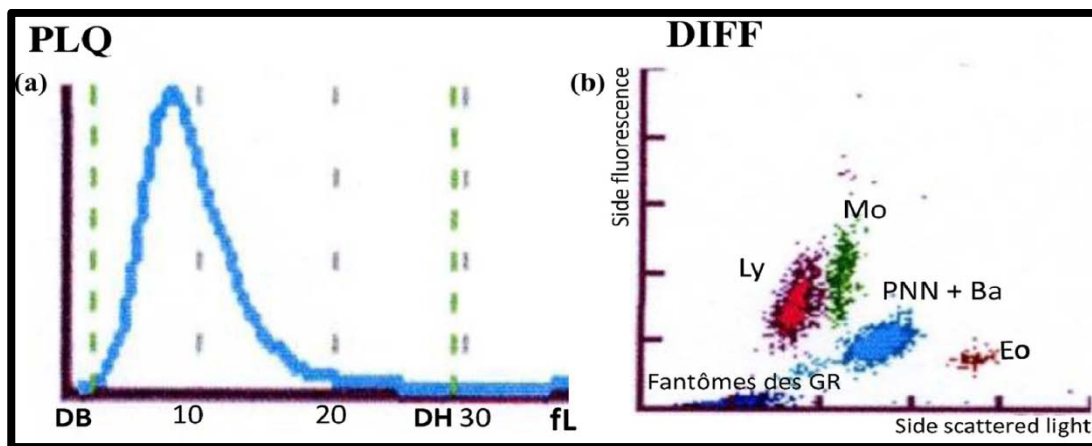
Les plaquettes sont dénombrées par mesure d'impédance, par diffraction laser et/ou par fluorescence. Le résultat est donné à partir de l'analyse de plusieurs milliers d'éléments.

Par mesure d'impédance, elles sont souvent décomptées sur la même dilution que les hématies mais dans des canaux correspondant à de plus faibles volumes, allant de 2-12 fL pour la limite inférieure à 20-40 fL pour la limite supérieure [3],[24].

La répartition des volumes plaquettaires se fait selon la loi de Gauss. C'est une courbe de distribution en forme de cloche, passant par un maximum et symétrique autour de son axe .En règle générale, l'histogramme plaquettaire est lissé et doit commencer et finir à la ligne base

située entre les lignes de seuil. Divers messages d'alerte relatifs à la numération des PLQ sont générés à partir de l'histogramme plaquettaire et du scattergramme.

Les anomalies sont perceptibles, d'une part, au niveau de l'histogramme plaquettaire sous la forme d'une courbe non lissée ou courbe ne revenant pas à la ligne de base, et d'autre part au niveau du scattergramme DIFF car les agrégats plaquettaires peuvent apparaître dans la région entre la zone des fantômes des GR et la zone basophiles/neutrophiles. [28]



**Figure 19** : a- histogramme plaquettaire normal (Les tirets de couleur verte correspondent au discriminant bas entre 2 et 6 fL et au discriminant haut entre 12 et 30 fL. b: scattergramme normal (Ly, Mo ,PNN , Ba, Eo ) [28].

## **5. Principe de mesure de l'analyseur automatisé : sysmex XT- 4000I [1]**

Le système hématologique automatisé XT-4000i de Sysmex utilise la puissance des technologies de la cytométrie de flux et de la focalisation hydrodynamique. Grâce à une table de travail de laser à diode unique et à la fine pointe de la technologie, la technologie fluorescente et la focalisation hydrodynamique permettent au XT-4000i de classer de façon constante les populations normales de globules blancs, de GR et de plaquettes par rapport aux populations anormales, diminuant ainsi le nombre d'interventions manuelles requises.

Les globules rouges et les PLT sont numérotés dans un canal spécifique par la méthode de la détection à courant continu (CC) en combinaison avec la technologie de la focalisation hydrodynamique.

Analyse de L'hémoglobine, Le XT-4000i utilise un réactif sans cyanure, le sulfate sodique de lauryle (SDS). Le produit fini est un composé coloré qui est mesuré de façon spectrophotométrique. Étant donné que les déterminations d'hémoglobine sont réalisées à partir d'une dilution dans une cuve séparée réservée à cette fonction.

La Mesure Directe de l'hématocrite par l'amplitude d'impulsion cumulative de toutes les numérations érythrocytaires donne l'hématocrite. Celui-ci est basé sur le principe que l'amplitude d'impulsion (la variation de tension) produite par les cellules qui passent à travers l'ouverture est proportionnelle au volume de la cellule.

La numération fluorescente de réticulocytes est disponible sur le XT-4000i. Sysmex offre la possibilité de réaliser à bord des tests réticulocytaires dans un canal spécifique, permettant ainsi d'améliorer l'efficacité du laboratoire en assurant des rapports 24 heures par jour.

La combinaison de la dispersion latérale (la complexité cellulaire) et de la dispersion vers l'avant (la dimension) des cellules nucléées offre une image de chaque cellule de sang périphérique détectée.

La technologie fluorescente permet au XT-4000i de différencier les populations leucocytaires normales des populations leucocytaires anormales.

Le XT-4000i de Sysmex propose un différentiel à 6 parties, ce qui comprend la numération et le pourcentage de granulocytes immatures.

La numération de granulocytes immatures permet de rapporter des résultats quantitatifs relatifs aux granulocytes (métamyélocytes, myélocytes et promyélocytes).

**Tableau XXIII : Les paramètres mesurés et calculés pour les automates SYSMEX [22].**

Paramètres calculés			Paramètres mesurés		
Paramètre	unité	Calcul	Paramètre	unité	Principe mesure
VGM	fl	$Ht(\%)*10/GR(T/L)$	GR	T/L	Impédance
CCMH	g/dl	$Hb(g/dL)*100/Ht(\%)$	Ht	%	Impédance
TCMH	pg	$Hb(g/dL)*10/GR(T/L)$	Hb	g/dL	Spectrophotométrie
VPM	fl	$PCT\% * 10000/ PLT (G/L)$	IDR	%	Impédance
PN	%	$PN(G/L)*100/GB(G/L)$	Plaquettes-I	G/L	Impédance
Ly	%	$Ly(G/L)*100/GB(G/L)$	Plaquettes fluo	G/L	C.M.F
Mono	%	$Mono(G/L)*100/GB (G/L)$	Plaquetocrite	%	Impédance
PNE	%	$PNE(\%)*100/GB(G/L)$	GB	G/L	C.M.F
PNB	%	$PNB(\%)*100/GB(G/L)$	PN	G/L	C.M.F
IG	%	$IG(\%)*100/GB(G/L)$	Ly	G/L	C.M.F
Réticulocytes	G/L	$Ret\%o *GR*10^3/1000$	Mono	G/L	C.M.F
EB	%	$EB(\%)*100/TNC-N(G/L)$	PNE	G/L	C.M.F
			PNB	G/L	C.M.F
			IG	%	C.M.F
			EB	G/L	C.M.F
			Réticulocytes	G/L	C.M.F

### III. Hémogramme

Le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies tant bénignes que malignes.

Ses indications sont très nombreuses et dépassent largement le cadre des pathologies hématologiques.

Il s'agit donc d'un diagramme sanguin qui analyse le nombre, la proportion, la morphologie et les variations des éléments figurés du sang. Il apporte des informations quantitatives, mais également qualitatives sur les trois lignées cellulaires [3].

Il comprend les paramètres suivants :

- Numération des cellules sanguines ;
- Dosage de l'hémoglobine ;

- Mesure et calcul des constantes et indices érythrocytaires et plaquettaires ;
- Etablissement de la différentielle leucocytaire.

La numération et la formule sanguine sont maintenant réalisées sur des automates de façon suffisamment fiable. L'étude morphologique par frottis garde son place et permet de résoudre des pièges techniques qui peuvent être dus à différentes situations, afin de valider les résultats.

De nos jours le comptage des cellules sur automate a rationalisé le comptage des cellules sanguines, et par rapport aux problèmes du diagnostic et à la qualité, c'est plus reproductible et pratique que le comptage manuel.

A l'obtention des résultats chiffrés, s'est ajoutée une visualisation au moins partielle des particules énumérées sous la forme de graphes mono-bi ou multiparamétrique. Divers messages d'alertes ont été mis en place en parallèle pour signaler plus précisément certaines anomalies de mesure ou d'analyse. Ces divers messages et histogrammes complètent aujourd'hui l'interprétation technique et biologique de l'hémogramme [29].

Une interprétation correcte de l'hémogramme permet d'orienter vers des pistes diagnostiques et vers la prescription rationnelle d'examen complémentaires. Ces données doivent être intégrées aux données de l'interrogatoire, de l'examen clinique ainsi qu'aux autres résultats biologiques. Les anomalies dépistées à l'hémogramme peuvent toucher différentes lignées. Lecture "intelligente" de l'hémogramme conduit à individualiser, selon son contenu, soit des diagnostics plus ou moins précis, soit des cadres syndromiques qui peuvent orienter vers des pistes diagnostique [30].

### **1. Indications d'hémogramme [14]**

C'est un examen d'orientation très important devant de très nombreuses situations, des signes évoquant une diminution d'une ou plusieurs lignées sanguines : syndrome anémique, syndrome hémorragique, syndrome infectieux. Et aussi des signes évoquant une augmentation

d'une ou plusieurs lignées sanguines : érythrose cutanée ou prurit à l'eau, thromboses artérielles ou veineuses, syndrome tumoral, altération de l'état général. Et devant certaines situations dans lesquelles un contrôle de la NFS doit ou peut être effectué en absence de symptôme : grossesse, ictère, médecine de dépistage, en préopératoire, en pré thérapeutiques ou en suivi.

Dans tous les cas, l'hémogramme à visée diagnostique doit être pratiqué avant toute thérapeutique pouvant en modifier les données et l'interprétation (fer, vitamine B12, acide folique, transfusion, etc.).

## **2. Numération de la formule sanguine [31]**

Les constantes érythrocytaires les plus utiles au praticien sont le VGM et la CCMH. Ces constantes sont utilisées en clinique pour classifier une anémie : anémie normocytaire, microcytaire ou macrocytaire en fonction du VGM, anémie normochrome ou hypochrome en fonction de la CCMH.

Les réticulocytes ne font pas partie de l'hémogramme systématique. Si ils sont comptés, la communication du résultat en valeur absolue est à encourager. Cette valeur ne peut être appréciée qu'en tenant compte du taux d'hémoglobine.

Les valeurs de la numération des différents types de leucocytes doivent être fournies sous forme de valeurs absolues. Les pourcentages n'ont pas d'intérêt clinique et sont une source de confusion. Ils ne devraient plus figurer parmi les résultats rendus.

Les principaux facteurs susceptibles de modifier les valeurs de l'hémogramme sont le sexe, l'âge, la race, la grossesse, la consommation d'alcool, le tabagisme, les rythmes nycthémeraux, l'effort physique et l'altitude.

Tableau XXIV : Valeurs normales de la numération en fonction de l'âge et du sexe [15].

	Nouveau-né	Femme	Homme	Enfant <10 ans
Hématies (million/mm <sup>3</sup> )	4,5 - 5,9	4 - 5,4	5,5 - 6	3,3 - 4
Hématocrite (%)	40 - 54	37 - 47	50 - 54	32 - 40
Hémoglobine (g/dl)	13 - 18	12 - 16	13 - 17	10 - 13
GB ( /mm <sup>3</sup> )	4000 - 10000	4000 - 10000	4000 - 10000	5000 - 11000
PNN ( /mm <sup>3</sup> )	2000 - 7500	2000 - 7500	2000 - 7500	2000 - 7500
PNE ( /mm <sup>3</sup> )	30 - 500	30 - 500	30 - 500	30 - 500
PNB ( /mm <sup>3</sup> )	10 - 100	10 - 100	10 - 100	10 - 100
Lymphocytes ( /mm <sup>3</sup> )	1500 - 8000	1500 - 4500	1500 - 4500	1500 - 8000
Monocytes ( /mm <sup>3</sup> )	200 - 800	200 - 800	200 - 800	200 - 800
Plaquettes ( /mm <sup>3</sup> )	150000 - 400000	150000 - 400000	150000 - 400000	150000 - 400000

### 2.1. Alarmes [32]

Ce sont des messages qui alertent l'utilisateur sur la présence éventuelle d'anomalies quantitatives ou qualitatives, en rapport avec formule sanguine. Ces alarmes qu'elles soient quantitatives ou qualitatives, nécessitent le plus souvent des vérifications techniques, voir un recours à l'examen du frottis sanguin au microscope optique, avant de procéder à la validation technique de la NFS.

Le recours à l'examen du frottis sanguin au microscope optique est le plus souvent recommandé en cas d'alarmes. C'est une étape indispensable du processus analytique avant la validation technique du résultat. Son indication dépend, non seulement de la présence d'alarme quantitative ou qualitative, mais aussi de l'ensemble du résultat de la NFS fourni par l'automate, et dans un contexte particulier (âge, le service prescripteur, antériorité, etc...). L'examen du frottis sanguin permet de confirmer ou d'infirmer une anomalie quantitative ou de rechercher des cellules anormales en cas d'alarmes qualitatives.

*a. Alarmes quantitatives*

Le déclenchement des alarmes quantitatives survient quand les paramètres sont hors des limites prédéfinies par l'utilisateur (anémie, thrombopénie, hyperleucocytose, etc...). Les critères permettant le déclenchement des alarmes qualitatives sont fixés par le fabricant et ne sont pas modulables [33].

Les indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la numération globulaire et des formules sanguines (tableau XXV, XXVI) selon GFHC [34].

**Tableau XXV : Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la numération globulaire [34].**

Leucocytes (G/l)	Adulte/Enfant	Patients atteints d'hémopathie maligne, en sortie d'aplasie (leucocytes $\geq$ 1,0 G/l sur le résultat actuel et $<$ 1,0 sur le résultat précédent)
Plaquettes (G/l)	Adulte	$<$ 100, en situation initiale $>$ 450, en situation initiale
	Enfant	$<$ 150, en situation initiale
Volume plaquettaire moyen (fl)	Adulte/Enfant	$<$ 7, en situation initiale avec plaquettes $<$ 150 G/l $>$ valeur limite supérieure (fournisseur), en situation initiale avec plaquettes $<$ 150 G/l
Hémoglobine (g/dl)	Adulte	$<$ 8, en situation initiale $<$ 10, en situation initiale avec réticulocytes $>$ 120 G/l
	Enfant	$<$ 9, en situation initiale
Volume globulaire moyen (fl)	Adulte	$>$ 105, en situation initiale $<$ 75, en situation initiale
	Enfant	$>$ 85 (6 mois à 2 ans), $>$ 95 (2 à 15 ans), en situation initiale $<$ 70 (6 mois à 2 ans), $<$ 72 (2 à 6 ans), $<$ 75 (au-delà de 6 ans), en situation initiale
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g/dl)	Adulte/Enfant	$>$ limite normale supérieure, en absence d'interférence
Index de distribution volumétrique des globules rouges (CV %)	Adulte/Enfant	$>$ 22 %, en situation initiale, hors contexte connu de transfusion de globules rouges
Réticulocytes (G/l)	Adulte/Enfant	$>$ 120, en situation initiale

**Tableau XXVI : Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la formule leucocytaire [34].**

Résultat précédent	Adulte/Enfant	Présence de cellules malignes sur le résultat précédent Présence d'érythroblastes sur le résultat précédent (si non énumérés automatiquement par l'analyseur)
Érythroblastes	Adulte/Enfant	Présence d'érythroblastes détectée par l'analyseur, en situation initiale ou à chaque fois si non énumérés automatiquement par l'analyseur
Polynucléaires neutrophiles	Adulte/Enfant	< 1,5 G/l, en situation initiale
Polynucléaires éosinophiles	Adulte/Enfant	> 1,5 G/l, en situation initiale
Polynucléaires basophiles	Adulte/Enfant	> 0,3 G/l et/ou > 3 %, en situation initiale
Lymphocytes	Adulte	> 5 G/l, en situation initiale
	Enfant	> 9 G/l (2 à 6 ans), > 6 G/l (6 à 12 ans), > 4 G/l (> 12 ans), en situation initiale
Monocytes	Adulte/Enfant	> 1,5 G/l, en situation initiale > 1,5 G/l, persistant plus de 30 jours > seuil à définir par chaque laboratoire en cas de monocytose survenant en cours d'hospitalisation

***b. Alarmes qualitatives [32]***

Ces alarmes de suspicion sont générées sous forme de messages accompagnés de graphes (courbe ou scattergramme de distribution). Elles sont paramétrables uniquement par le fournisseur. Leur maîtrise indispensable, permet d'identifier la nature de l'anomalie qui concernera la numération. Cela signifie dans certains cas, un problème de discrimination entre deux populations ou la présence éventuelle de cellules potentiellement anormales que l'automate serait incapable d'identifier ou de quantifier avec précision. Devant ces alarmes, les données rendues par l'automate doivent être interprétées avec vigilance, afin d'éviter la validation d'un résultat erroné ou passer à côté d'une pathologie grave.

Un contrôle de la formule sanguine par une lecture microscopique du frottis sanguin (selon les règles d'expertises) est souvent nécessaire avant la validation.

Tableau XXVII : Alarmes qualitatives des différentes lignées [32], [35],[36].

<b>Ligne érythrocytaire</b>	
Anisocytose	IDR-CV > 22% IDR-SD > 65 fl
Microcytose	VGM < 70 fl
« Dist. An. GR »	Distribution anormale de la courbe modification de l'impédance des GR
« Dismorphic.Pop.»	Double population, le résultat peut être rendu si absence d'interférence avec les GB.
Carence en fer?	CCMH < 31 g/dl, VGM < 75 fl, IDR -CV > 15%, HGB < 11 g/dl
« Def. Hgb ? » Anomalie de l'hémoglobine?	VGM < 75 fl IDR-CV > 15% Anomalie de l'hémoglobine (Thalassémie)
Turbidité Hgb?	CCMH > 36.5 g/dl, interférence entre Hgb et plasma Si le plasma n'est pas lactescent vérifier l'absence d'hémolyse.
<b>Ligne blanche</b>	
Scatter GB Anormal	Population non différenciée et aucune discrimination de GB.
« NRBC ?»	Elle signale la présence d'érythroblastes.
« Blastés ?»	Elle signale la présence de blastés.
« Gra. Immat?» « Présence IG »	Elle signale la présence de granulocytes immatures.
Ly atypique ?	Elle signale l'apparition de cellules à fluorescence très élevée au-dessus du nuage des lymphocytes. Cette fluorescence reflète une teneur élevée en ARN. Ces cellules peuvent correspondre à des lymphocytes activés (hyperbasophiles) d'origine réactionnelle (cellules mononucléées et/ou plasmocytes).
Blasts/Abn Lympho ?	Elle correspond à l'apparition de cellules à fluorescence très élevée au-dessus du nuage des monocytes. Ces cellules peuvent être d'origine tumorale et correspondre notamment à des blastés
Déviations gauches ?	Elle correspond à l'apparition de cellules identifiées juste au-dessus de la zone des PNN, ou un déplacement du nuage des PNN. Cela signifie la présence probable de PNN en segmentation, ou des PNN hypo-segmentés.
<b>Ligne plaquettaire</b>	
Aggreg PLQ	suspicion d'agrégats Plaquettaire, dans tous les cas, les alarmes de suspicion d'agrégat plaquettaire devront être Vérifiées afin aussi de passer à côté d'une thrombocytose.
Dist. PLQ Anorm	Distribution anormale des plaquettes.
Scatter PLQ Anorm	Comptage optique douteux, comptage par une autre méthode si le comptage par impédance est faux également.

### 3. Anomalies de la numération de la formule sanguine

#### 3.1. Anomalies quantitatives

##### a. Lignée rouge [14]

- Diminution du nombre des hématies

Doit être interprétée en fonction de la concentration de l'hémoglobine. Toute diminution (moins de 13 g/100 mL) est définie une anémie. Elle peut être liée à une atteinte périphérique (hémorragie, hémolyse, syndrome inflammatoire chronique...) ou médullaire.

Les anémies microcytaires (VGM inférieur à 80 fl chez l'adulte, ou à 70 fl chez l'enfant), traduisent un trouble de la synthèse de l'hémoglobine. Les plus fréquentes sont les anémies hyposidérémiques par carence martiale. Les anémies inflammatoires responsables également des anémies hyposidérémiques deviennent microcytaires et hypochromes (CCMH inférieur à 32 g/dl); quand elles sont très chroniques.

Les anémies sont macrocytaires si VGM supérieur à 100 fl chez l'adulte, ou à 95 fl chez l'enfant.

Les anémies normocytaires (VGM compris entre 80 et 100 fl chez l'adulte, entre 70 et 95 fl chez l'enfant) seront distinguées en fonction du contexte clinique et de la numération des réticulocytes. Anémies régénératives (numération des réticulocytes supérieur à 150 giga/l) traduisant une régénération médullaire après hémolyse ou hémorragie aiguë ou post-chimiothérapie; anémies arégénératives sont quand la numération des réticulocytes normale ou diminuée.

- Augmentation du nombre des globules rouges

Dans le cadre d'une polyglobulie qui peut évoquer une maladie de Vaquez (Hémopathie myéloproliférative), une hypoxie (augmentation réactionnelle) ou une déshydratation.

Indice de distribution du volume des globules rouges (IDGR) est augmenté en cas d'anisocytose globulaire.

Examination des hématies sur frottis est indispensable en cas d'anémie ou même d'anomalies de paramètres érythrocytaires (VGM, TCMH, IDGR) sans anémie.

***b. Lignée blanche [14],[16],[37]***

Ces anomalies sont de deux types ; les anomalies quantitatives par excès ou par défaut des cellules circulantes normalement présentes dans le sang, ou la présence de cellules qui sont normalement absentes de la circulation (cellules physiologiques de la moelle osseuse ou cellules pathologiques issues d'un clone malin).

- **Hyperleucocytose**

Il s'agit de l'augmentation du nombre de GB au-dessus des valeurs normales (supérieur à 10 giga/l) pour l'âge, le sexe et l'état physiologique. L'hyperleucocytose doit être interprétée avec les données de la formule. Elle peut être réactionnelle, bénigne (ex : hyperleucocytose avec polynucléose neutrophile en réaction à une infection bactérienne) ou au contraire maligne (hyperleucocytose avec blastes circulants dans le cadre d'une leucémie aiguë).

- **Leucopénie**

Il s'agit d'une diminution du nombre de GB en dessous des valeurs normales (inférieur à 4 giga/l). La leucopénie est essentiellement le fait d'une neutropénie, parfois d'une lymphopénie associée ou non à d'autres cytopénies. Les leucopénies peuvent avoir de multiples étiologies.

- **Polynucléose neutrophile**

L'augmentation pathologique du nombre de polynucléaires neutrophiles, au-dessus de > 7 G/l. La cause principale des polynucléoses neutrophiles est l'infection sous toutes ses formes. On peut aussi observer une relative polynucléose dans les maladies responsables d'un syndrome inflammatoire chronique, notamment les maladies rhumatismales et les cancers.

- **Neutropénie**

Une diminution du nombre des polynucléaires neutrophiles au-dessous de 1,5 G/l. caractérise les neutropénies. Celles-ci comportent un risque infectieux qui dépend de plusieurs facteurs :

- Le mécanisme de la neutropénie, plus grave si elle est d'origine centrale (insuffisance de production de polynucléaires) que si elle est périphérique (épuration sanguine rapide ou excès de margination).
- Le caractère transitoire ou persistant de la neutropénie, la chronicité accentue le risque.
- La rapidité d'installation de la neutropénie, une neutropénie aiguë est plus dangereuse.
- Le chiffre même des polynucléaires.

- **Lymphocytose**

Augmentation du nombre de lymphocytes dans le sang (supérieur à 4 /l chez l'adulte).

Elles peuvent être :

- Bénignes dues à une réaction immunitaire et sont alors polymorphes (morphologie très variable des lymphocytes circulants, dont certains sont dits activés et ont un cytoplasme basophile).
- Malignes dues à un syndrome lymphoprolifératif et sont alors monomorphes (même aspect morphologique, normal ou non, de l'ensemble des lymphocytes circulants).

- **Lymphopénie**

Diminution du nombre de lymphocytes sanguins (inférieur à 1,5 G/l). Primitive elle est due à un déficit immunitaire congénital. Elle peut être secondaire à une radiothérapie ou à des infections virales, dont le virus HIV (diminution des lymphocytes porteurs du marqueur membranaire CD4).

- **Hyperbasophilie**

L'excès de polynucléaires basophiles (supérieur à 0,05 G/l) est souvent rencontré de façon modérée, lors des états allergiques. Les augmentations importantes accompagnent généralement les syndromes myéloprolifératifs

- **Monocytose**

On parle de monocytose quand le nombre de monocytes sanguins est supérieur à 1 G/l. on distingue : les monocytoses transitoires sont généralement réactionnelles à des pathologies infectieuses ou inflammatoires ; les monocytoses chroniques sont généralement liées à une hémopathie maligne qu'il convient d'explorer en milieu spécialisé.

- **Hyperéosinophilie**

Le nombre des éosinophiles sanguins est supérieur à 0,5 G/l. Il traduit rarement une hémopathie. Les deux principales étiologies sont parasitaires et allergiques. Chez le nourrisson prématuré, vers six à huit semaines de vie, une éosinophilie physiologique transitoire (quelques semaines) est fréquente (1-2 G/l).

c. Lignée plaquettaire

- **Thrombocytoses**

En pratique, on explore les hyperplaquettooses à 450 G/l. Elles comportent un risque thrombotique jusqu'à 1 500 G/l et un risque hémorragique est surtout si numération supérieur à 1 500 G/l. Elles sont réactionnelles à un taux généralement inférieur à 800 G/l.

- **Thrombopénies**

Le nombre des Plaquettes est inférieur à 150 G/l. La démarche étiologique diffère selon qu'il s'agit d'un nouveau-né, d'un enfant, ou d'un adulte. Une thrombopénie peut être de découverte systématique ou révélée par un syndrome hémorragique.

### 3.2. Anomalies qualitatives

- **Myélémie [38]**

La myélémie est le passage dans le sang des formes immatures (précurseurs) de la lignée granuleuse de la moelle : métamyélocytes, myélocytes, et moins souvent promyélocytes. dans de nombreuses situations physiologiques (régénération médullaire quel qu'en soit le mécanisme) ou pathologiques (syndromes myéloprolifératifs, métastases médullaire d'un cancer).

- **Erythroblastose [30]**

Les érythroblastes (les précurseurs de la lignée érythroblastique) sont normalement absents du sang. Leur présence peut être isolée ou être associés à la myélémie (érythromyélie). On doit penser d'abord une hémolyse aiguë (régénération) ou à un envahissement médullaire (dans ce cas, il peut exister une leucopénie isolée ou associée à la diminution d'une autre lignée). Elle est également physiologique la première semaine de vie et régresse ensuite totalement.

- **Blastose [39]**

Les blastes sont des cellules plus immatures non différenciées de l'hématopoïèse (érythro-, leuco- et thrombopoïèse) visibles sur le frottis sanguin, ne sont normalement observées que dans la moelle osseuse. La présence des blastes dans le sang périphérique requiert, même lors d'un faible nombre, des examens approfondis. Si un grand nombre parvient dans le sang périphérique, on note souvent aussi la présence d'une anémie, d'une neutropénie et/ou d'une thrombopénie dans le cadre d'une leucémie aiguë. On parle alors également d'une libération de blastes leucémiques. Ces blastes leucémiques présentent généralement une morphologie différente par rapport aux blastes normaux retrouvés dans la moelle osseuse saine.

- **Cellules lymphoïdes atypiques [30]**

Le développement de diverses affections lymphoprolifératives peut s'accompagner du passage sanguin de cellules de morphologie anormale. Leur homologation et leur identification peuvent conduire à un diagnostic (lymphomes malins de différents types, différentes variétés de leucémies lymphoïdes).

L'automate fournit des alarmes en cas d'anomalies de répartition des populations cellulaires analysées. Il s'agit essentiellement d'alarmes « blastes », lymphocytes anormaux ou myélémie ». Elles peuvent être isolées ou associées entre elles ou à des anomalies quantitatives. De toute façon, l'examen du frottis de sang est indispensable pour un diagnostic précis.

#### **4. Morphologie des cellules sanguine normales et pathologiques**

L'observation des frottis au microscope est aujourd'hui réservée aux échantillons pour lesquels l'automate a engendré une alarme qualitative et a pour but d'identifier les cellules pathologiques et les cellules normales mal identifiées par l'automate.

Dans un certain nombre de situations, les cellules pathologiques dont les caractéristiques cellulaires sont proches de la normale ne déclenchent pas d'alarme et ne sont donc pas détectées. Leur recherche systématique au microscope est alors nécessaire, à condition d'être orientée par le médecin clinicien.[40]

**Tableau XXVIII : Description de la méthode du frottis sanguin [22].**

Analyte/Mesurande :	Cellules sanguines circulantes - Normales : Polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, polynucléaires basophiles, lymphocytes, monocytes. - Anormales : immatures, réactionnelles, tumorales
Principe de la Mesure :	Identification morphologique et numération par microscopie optique (100 cellules observées au minimum, permettant, d'obtenir un pourcentage pour chaque population cellulaire) d'un frottis de sang après coloration au May-Grünwald Giemsa (MGG)
Méthode de mesure :	Comptage du nombre de cellules d'un type défini sur cent leucocytes.
Type d'échantillon primaire	Sang total
Type de récipient (Additif)	EDTA
Prétraitement de l'échantillon :	Agitation des tubes par retournement, réalisation du frottis puis coloration.

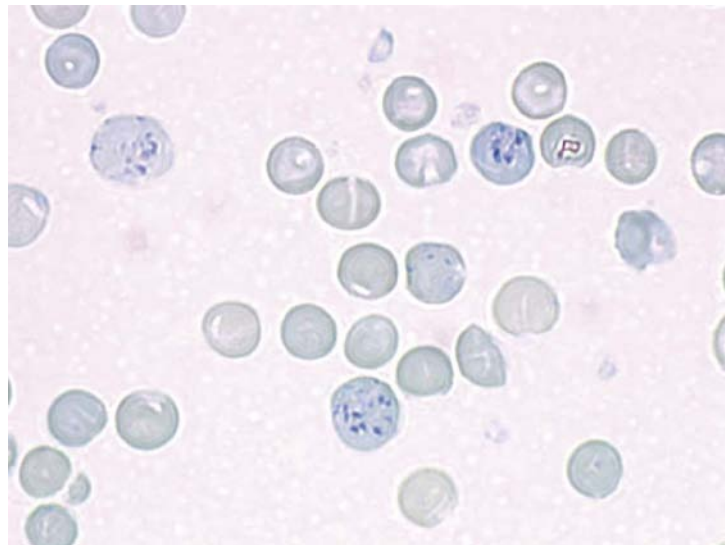
4.1. Lignée rouge

a. Aspect morphologique normal des globules rouges

L'examen microscopique de l'hémogramme rouge est encore important, malgré les possibilités de l'analyse hématologique automatisée .Il nous fournit des informations relatives à la présence de modifications spécifiques de la forme des érythrocytes, d'inclusions érythrocytaires possibles et de variations de la couleur ou de précurseurs rouges nucléés (érythroblastes) [41].

- **Réticulocyte [42]**

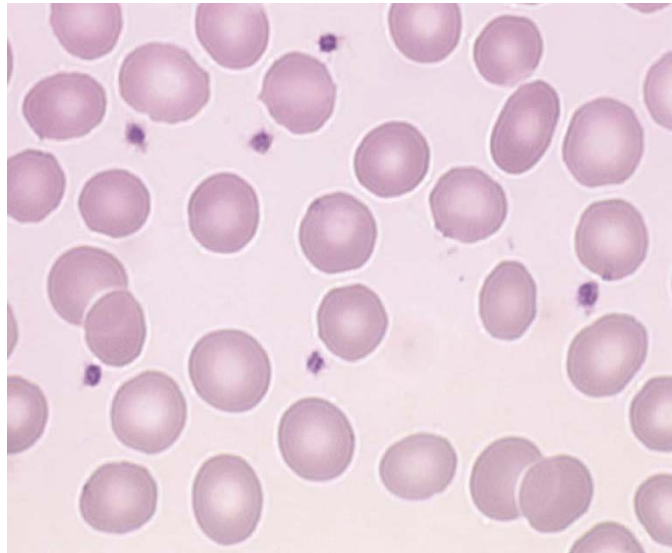
Le réticulocyte a une taille et un volume un peu supérieurs à ceux du GR (110 - 125 fL ; 8 µm de diamètre), et possède encore des ribosomes et des mitochondries, mis en évidence et dénombré sur des frottis après une coloration au bleu de crésyl brillant ; un réseau de grains bleu violet à l'intérieur de la cellule permet de les différencier des hématies.



**Figure 20 : Réticulocytes. La coloration au bleu de crésyl met en évidence l'acide ribonucléique (ARN) contenu dans les réticulocytes (Anémie hémolytique) [42].**

- **Hématie [15]**

L'hématie normale apparaît sous forme d'un disque biconcave dont le diamètre est de 7,5 à 8  $\mu$ . rosé dont le centre clair correspond à la concavité. L'épaisseur mesure 1  $\mu$  au centre et 2,5  $\mu$  en périphérie. Disque avec un gros bourrelet périphérique traduit un rapport surface-volume excédentaire et leur fournit une déformabilité optimale.



**Figure 21** : Frottis de sang normal coloré au MGG. Globules rouges normaux par leur taille, leur colorabilité et leur forme [42].

*b. Anomalies morphologiques des globules rouges [41], [43]*

- **Anomalie de la taille**

L'anisocytose indique une hétérogénéité de taille des hématies examinées. La microcytose se définit par la présence d'hématies de taille diminuée avec un VGM abaissé.

A l'inverse, la macrocytose est caractérisée par des hématies de diamètre augmenté.

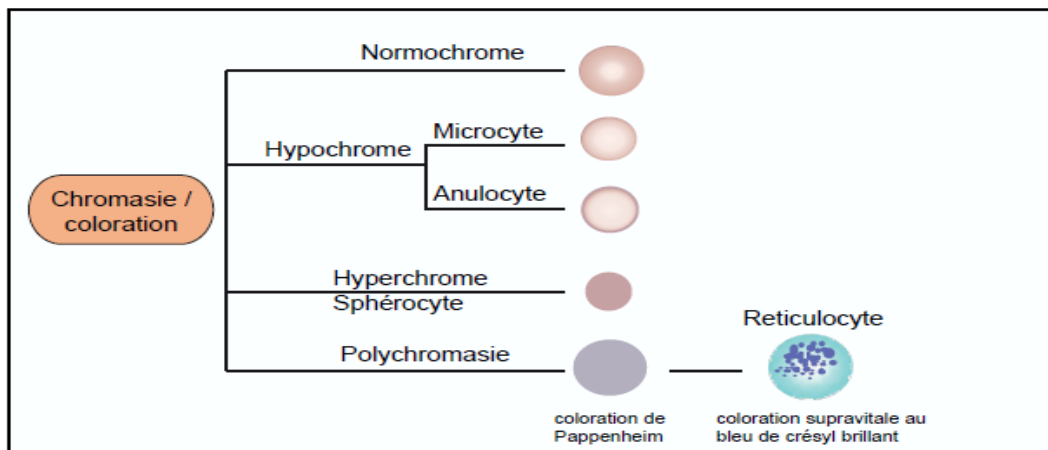
- **Anomalies de la teinte**

Plusieurs anomalies sont décrites en rapport avec des variations d'intensité de coloration du cytoplasme des hématies. L'hypochromie est définie par la présence des hématies de teinte plus pâle que la normale, en rapport avec une diminution de la concentration en hémoglobine.

Le terme d'annulocyte ou leptocyte désigne les hématies où seule la périphérie de la cellule semble colorée, ce qui peut être dû à la diminution en hémoglobine ou au contraire à l'augmentation de la surface de la membrane.

La présence des hématies de teinte foncée et homogène traduit l'existence de cellules hyperdenses, déshydratées, à concentration en hémoglobine élevée. Cet aspect est observé dans la sphérocytose héréditaire.










La polychromatophilie correspond à la présence des hématies de teinte légèrement gris-bleue et de taille augmentée. Ce sont de jeunes hématies contenant des résidus d'ARN. Elles traduisent une intense régénération médullaire et se retrouvent dans toutes les anémies constitutionnelles avec forte réticulocytose.



**Figure 22** : Différentes anomalies de la teinte des globules rouges [41].

- **Anomalies de la forme**

L'hématie à l'état normal a une forme discoïdale. Cependant, différentes anomalies constitutionnelles de la membrane ou de l'hémoglobine, et plus rarement des enzymes érythrocytaires, peuvent entraîner une déformation du globule rouge. Ces anomalies de forme peuvent être évocatrices d'une pathologie constitutionnelle du globule rouge, mais la plupart sont aussi retrouvées de façon non spécifique dans des pathologies acquises.

Formes			
Poikilocytose		Diverses érythrocytes déformés	
Acanthocytes		Ec à dentelure irrégulière	
Echinocytes		Ec à dentelure régulière (artéfact en cas de sang EDTA trop ancien)	
Ovalocytes (elliptocytes)		Ec de forme ovale (>25% év. ovalocytose congénitale)	
Fragmentocytes (schistocytes)		fragments d'Ec, forme de coquilles d'œuf (par lésion mécanique, p.ex. CIVD)	
Stomatocytes		zone centrale plus claire en forme de bouche ou de fente (en cas d'hépatopathies)	
Formes de lames (daciocytes)		en forme de lames, extrémité légèrement arrondie (p.ex. en cas de myélofibrose)	
Drépanocytes		en forme de faucille ou de bateau (en présence d'une hémoglobinopathie HbS)	
Cellules cibles		coloration rouge foncé au centre de la cellule (hépatopathies, thalassémies)	

**Figure 23** : Différentes anomalies morphologiques des globules rouges [41].

Le terme de poikilocytose indique la présence sur les frottis des hématies de formes très variées (arrondies, ovalaires, en massue, en raquette) Elle résulte de différentes causes et peut se rencontrer au cours des anémies de mécanismes variés.

**Tableau XXIX : Anomalies de forme et maladies associées [43].**

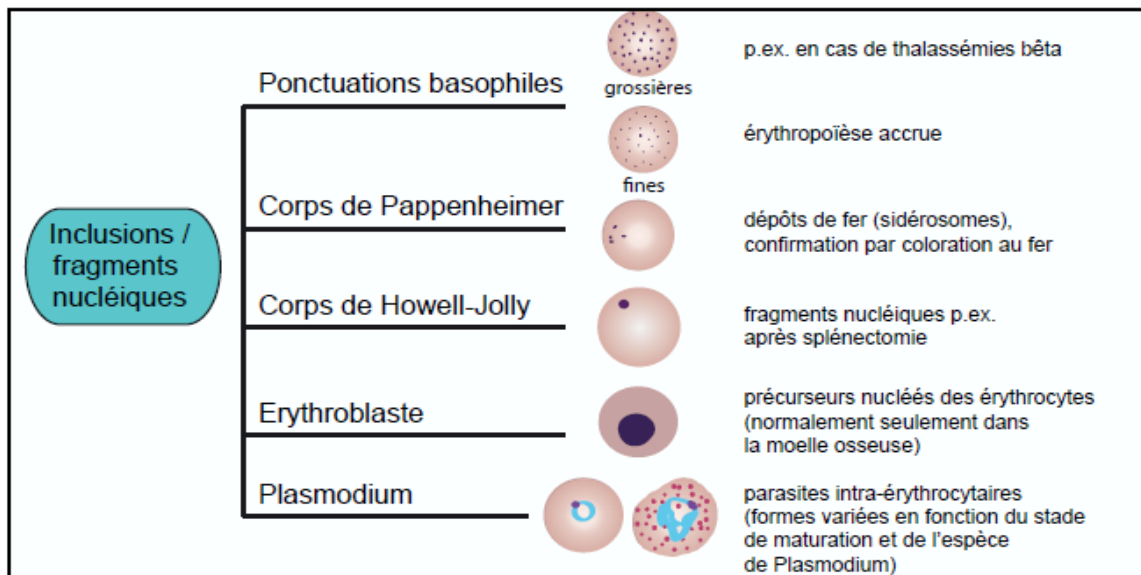
Anomalie	Description	Pathologies héréditaires	Pathologies acquises
<b>Acanthocytes</b>	5 à 10 spicules irrégulièrement disposés à la périphérie de l'hématie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Abteliipoprotéïnémie</li> <li>- Neuroacanthocytose</li> <li>- Maladie de Hallervorden Spatz</li> <li>- Phénotype McLeod</li> <li>- Phénotype Lutheran</li> <li>- Anomalie de la protéine bande 3</li> <li>- Sphérocytose (anomalie sévère de la spectrine)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Atteinte hépatocellulaire sévère</li> <li>- Malnutrition sévère, anorexie mentale</li> <li>- Splénectomie, asplénie</li> <li>- Déficit en vitamine E</li> <li>- Hypothyroïdie</li> </ul>
<b>Echinocytes</b>	Hématies uniformément crénelées. La surface possède plusieurs petites projections fines et régulières	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Déficit en pyruvate kinase et en phosphoglycérate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Perturbation électrolytique</li> <li>- Gastroentérite</li> <li>- Brûlure</li> <li>- Azotémie</li> <li>- Splénectomie</li> <li>- Maladies des membranes hyalines</li> </ul>
<b>Codocytes (hématies cibles)</b>	Forme de cible avec un centre colore entouré d'une zone claire pale, bordée elle-même par une zone colorée	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Syndromes drépanocytaires S/S, mais surtout S/C thalassémiques</li> <li>- Syndromes thalassémiques</li> <li>- Hémodoglobinoïde C</li> <li>- Hémodoglobinoïde E</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Carence en fer</li> <li>- Déficit en LCAT</li> <li>- Pathologies hépatiques obstructives</li> <li>- Splénectomie</li> </ul>
<b>Dacryocytes (hématies en poire)</b>	Hématies en larmes, en poires, avec une queue plus ou moins effilée	Syndromes thalassémiques anémiques hémolytiques avec corps de Heinz	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Myélofibrose</li> <li>- Métaplasie myéloïde de la rate</li> </ul>

**Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate**

<b>Drepanocytes</b>	Hématies déformées, allongées, parfois recourbées en faucille	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Syndromes drépanocytalres S/S, S/C</li> <li>thalassémiques</li> <li>- Hb C Georgetown</li> <li>- Hb C Harlem</li> <li>- Hb S Antilles</li> </ul>	
<b>Elliptocytes</b>	hématies elliptiques. Le degré d'ellipticité est variable allant de cellules ovales à des cellules très allongées, bacilliformes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eliptocytose héréditaire</li> <li>- Ovalocytose mélanésienne (avec ovalocytes = rayes-)</li> <li>- Pyropoikilocytose</li> <li>- Thalassémie (&lt;15 %)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;15-25 %</li> <li>- anémie mégaloblastiques</li> <li>- Dyserythropoiesis acquise</li> <li>- Myélofibrose</li> </ul>
<b>Hématies fantômes (ghost et hemighost)</b>	Hématies soit totalement vidées de leur contenu, soit partiellement avec une bordure irrégulière de la partie vidée	Deficit en G6PD en crise	Prise de poisons oxydants (lysol)
<b>Sphérocytes</b>	Hématies à diamètre réduit ne possédant pas de zone claire centrale, uniformément colorées	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sphérocytose héréditaire (Minkowski-Chauffard)</li> <li>- Pyropoikilocytose héréditaire</li> <li>- Phénotype Rh</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- AHAI, incompatibilité ABO</li> <li>- Toute anémie hémolytique intravasculaire, toxique, infectieuse, mécanique</li> <li>- Hypersplénisme</li> </ul>
<b>Stomatocytes</b>	Hématies avec une dépression centrale, rectiligne. Aspect de bouche	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stomatocytose héréditaire avec hématies hyperhydratées</li> <li>- Xérocytose</li> <li>- Phénotype Rh</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alcoolisme aigu</li> <li>- Pathologie hépatique</li> <li>- Prise de drogues, de cytotoxiques</li> </ul>

- Inclusions intra-érythrocytaires

Les inclusions intra-érythrocytaires sont absentes du globule rouge normal. Elles apparaissent au cours de certaines pathologies, certaines sont décelables au MGG, d'autres seulement après des colorations spéciales.



**Figure 24** : Différentes formes des inclusions intra-érythrocytaires [41].

Tableau XXX : Inclusions intra-érythrocytaires et maladies associées [43].

Anomalie	Description	Pathologie héréditaires	Pathologies Aquisés
<b>Corps de howell-jolly</b>	Corps sphériques colorés en rouge foncé par le MMG, souvent unique dans l'hématie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Après splénectomie dans les anémies hémolytiques constitutionnelles (déficit en pyruvate kinase, sphérocytose)</li> <li>- Drépanocytose (asplénie fonctionnelle)</li> </ul>	
<b>Corps de Pappenheimer</b>	Petits granules contenant du fer, colorés en bleu par le MGG et en bleu-vert par la coloration de Perls	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anémie sidéroblastique congénitale</li> <li>- Thalassémie</li> <li>- Drépanocytose (asplénie fonctionnelle)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Splénectomie</li> <li>- Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne</li> </ul>
<b>Cristaux d'hémoglobine C</b>	Cristaux angulaires déformant l'hématie	Hémoglobine C homozygote et hétérozygote patients S/C et C thalassémie.	
<b>Ponctuations basophiles</b>	Granulations arrondies ou irrégulières, fines ou larges en nombre variable, réparties dans l'ensemble du cytoplasme et colorées en bleu par le MGG	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Déficit en pyrimidine 5'nucléotidase</li> <li>- Thalassémie</li> <li>- Hémoglobine instable</li> <li>- Déficit en phosphofruktokinase</li> <li>- Anémie hémolytique avec intense régénération</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Intoxication au plomb et métaux lourds (arsenic, cuivre.)</li> <li>- Carence en fer</li> <li>- Anémies mégalo-blastiques</li> <li>- Pathologie hépatique</li> </ul>
<b>Corps de Heinz</b>	Petites inclusions d'hémoglobine dénaturée, apparaissant en petit nombre près de la membrane cellulaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>Déficit en G6PD et autres enzymes du shunt des pentoses</li> <li>- Déficit en enzyme du métabolisme du glutathion</li> <li>- Hémoglobines instables</li> </ul>	Hémolyses toxiques
<b>Hémoglobine H</b>	Granules ronds multiples, colorés en gris bleu par le bleu de crésyl brillant Aspect de « balle de golf »	<ul style="list-style-type: none"> <li>Patients atteints d'alpha thalassémie avec plusieurs gènes délétés</li> <li>- Syndrome ATRX</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Syndromes myéodysplasiques</li> </ul>

4.2. Lignée blanche

a. Aspect morphologique normal des leucocytes

L'examen microscopique de la formule blanche joue encore aujourd'hui un rôle important, malgré les possibilités actuelles de l'analyse hématologique automatisée (la numération). Il nous fournit des informations relatives à la proportion des diverses populations cellulaires dont une partie n'est pas différenciée séparément ou n'est pas indiquée en chiffres par l'automate d'hématologie (neutrophiles non-segmentés, précurseurs de la granulopoïèse...).

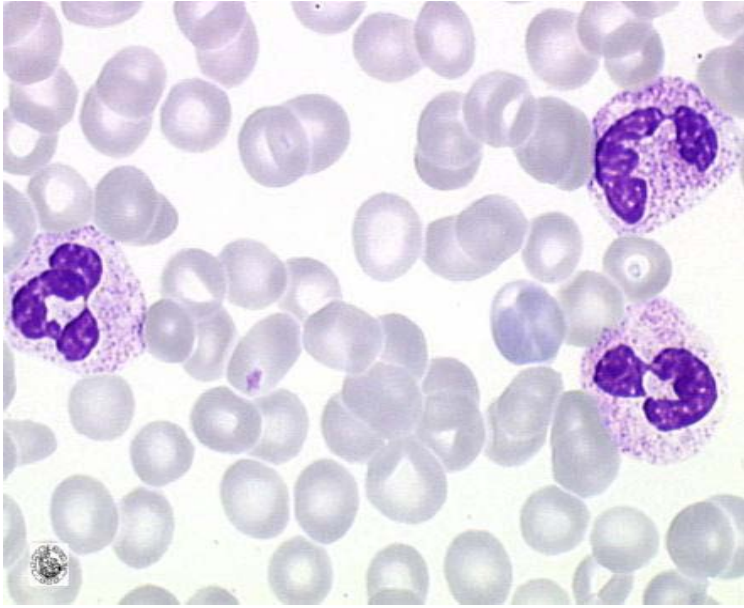
L'examen microscopique permet également d'identifier des caractéristiques morphologiques des cellules, qui peuvent fournir des indices essentiels sur des événements réactifs (infections), mais aussi sur des processus néoplasiques (leucémies) [30].

Tableau XXXI : Aspect morphologique normal des leucocytes [44].

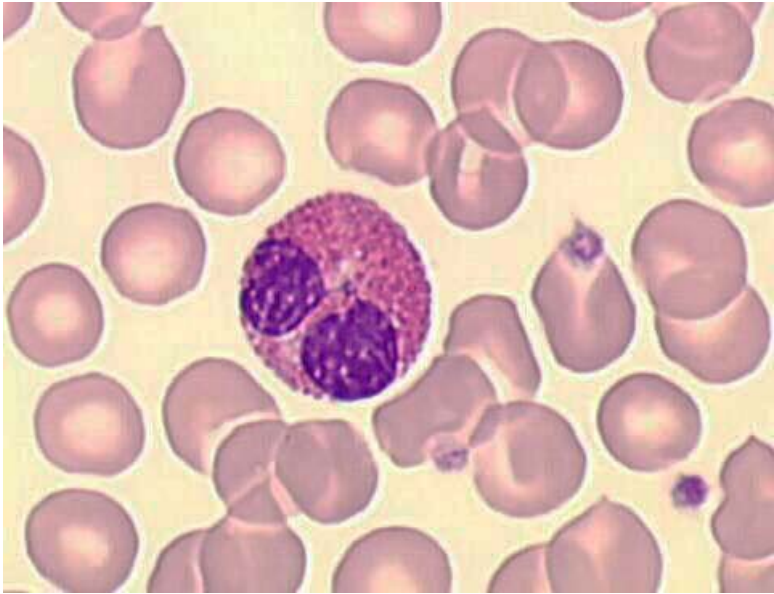
Globule Blanc	Taille	Noyau	Chromatine	Cytoplasme
PNN	12-14 $\mu\text{m}$	2 à 5 lobes arrondis ou ovalaires, reliés entre eux par des filaments d'épaisseurs variables, parfois même filiformes ou à peine visibles.	dense, formant 3 ou 4 blocs violet foncé, sur un fond d'oxychromatine rose violet plus clair.	beige ou à peine teinté. Présence de granulations primaires et secondaires. Les granulations secondaires sont : <ul style="list-style-type: none"> <li>- nombreuses ;</li> <li>- régulièrement réparties ;</li> <li>- fines ;</li> <li>- de teinte variant de beige marron à grisâtre</li> </ul>
PNE	12-14 $\mu\text{m}$	comporte fréquemment deux lobes, peut également en avoir 3 ou 4. Les lobes sont souvent ovalaires, et réunis par un pont incurvé, ou disposés symétriquement ; ce noyau a un aspect en besace	moins foncée que celle du granulocyte neutrophile	beige ou incolore, le cytoplasme est souvent entièrement recouvert par les granulations. Présence de granulations spécifiques qui sont : <ul style="list-style-type: none"> <li>- très nombreuses ;</li> <li>- volumineuses, régulières, le plus souvent sphéroïdales, parfois losangiques ;</li> <li>- teinte orange à chamois, parfois aspect réfringent ;</li> <li>- réparties dans tout le cytoplasme</li> <li>- serrées, aspect en « sac de billes ».</li> </ul>
PNB	10-14 $\mu\text{m}$	assez grand, souvent caché par les granulations. Forme : les lobes sont souvent rapprochés, donnant au noyau un aspect arrondi ou ovalaire porteur de 2 ou 3 fissures ; aspect en « trèfle ».	soit violet rougeâtre, sans blocs chromatiniens très marqués, soit aspect « délave ».	incolore ou rose clair. Présence de granulations spécifiques qui sont : <ul style="list-style-type: none"> <li>- taille et forme très irrégulières, donnant un aspect en « tache d'encre » ;</li> <li>- métachromatiques : variant de rouge à violet, le plus souvent violet foncé à</li> </ul>

Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

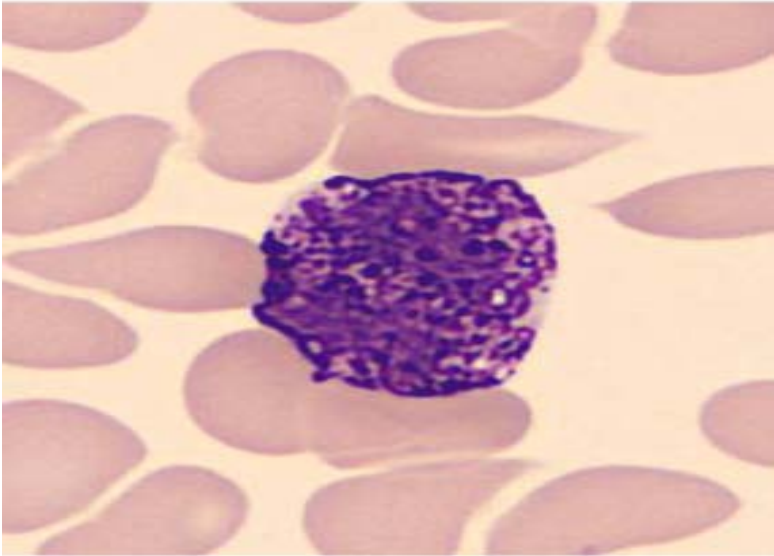
					noirâtre ; - à la fois dans le cytoplasme et sur le noyau.
LY	8-9 µm	Petit	arrondi, ovalaire, portant parfois une encoche, excentré, souvent tangent à la paroi cellulaire.	très dense, violet foncé, formée de masses compactes mal délimitées.	très réduit, parfois un seul arc de cytoplasme, nettement basophile, bleu foncé, le plus souvent. Absence de granulations.
LY	10-15µm	Grand	régulier, arrondi, ovalaire ou quadrangulaire. Position : subcentral, parfois accolé à un bord.	formant des masses rouge violacé, peu marquées, aux contours irréguliers et flous, donnant un aspect tourbillonné et nuageux.	basophilie variable, parfois à peine teintée, ou même incolore, cernée ou non d'un liseré bleu ; parfois aspect hyalin. Parfois présence de granulations
Mo	20-25 µm		irrégulier, mamelonné, réniforme, en forme de fer à cheval ou d'embryon, plus rarement ovalaire. Position : centrale ou subcentrale.	formée de filaments fins, sans blocs chromatiniens compacts ; présente un aspect « martelé », « spongieux », « peigne » ; teinte : rouge violacé, faiblement coloré.	étendu, à bords irréguliers, donnant un aspect de voile. Teinte pale, bleu gris, cendrée, dite « ciel d'orage », parfois légèrement basophile à la périphérie.



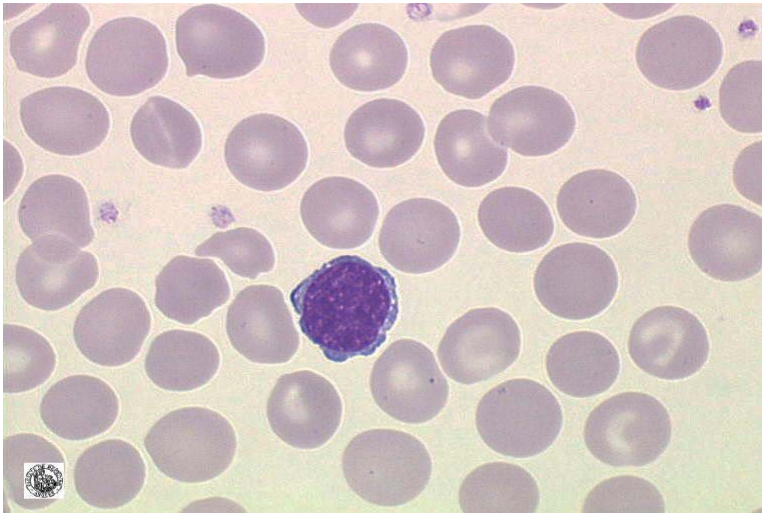
**Figure 25** : Polynucléaires neutrophiles normal, coloration MGG [17].



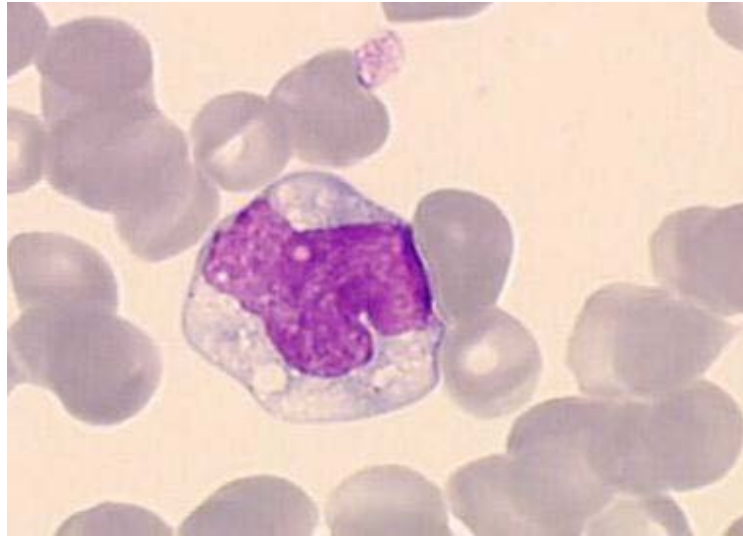
**Figure 26** : Polynucléaires éosinophiles normal [17].



**Figure 27 : Polynucléaires basophiles normal [17].**



**Figure 28 : Lymphocyte normal [17].**



**Figure 29 : Monocyte sanguin normal [17].**

Les résultats des données quantitatives et l'aspect du cytogramme de l'automate sont utiles pour une première orientation sur les anomalies à rechercher sur le frottis. Ainsi, en cas d'hyperleucocytose, l'examen du cytogramme pourra montrer [4] :

- Une anomalie dans la « région » des polynucléaires qui fera rechercher tout d'abord une myélémie ou des blastes, suggestions souvent proposées par l'automate.
- Une anomalie dans la « région » des lymphocytes ou à la jonction lymphocytes plus monocytes peut correspondre à des blastes ou des cellules lymphoïdes réactionnelles ou anormales ;
- une anomalie de la « région » des monocytes peut correspondre à des cellules monocytaires, mais d'autres cellules, de grande taille au cytoplasme abondant telles des tricholeucocytes.

Lors de l'examen du frottis plusieurs situations sont possibles, on peut observer des cellules « normales » mais anormalement présentes dans le sang :

- Myélémie ;

- des érythroblastes ;
- des plasmocytes peut en retrouver un faible pourcentage dans divers situations (infections notamment virales, grand syndrome inflammatoire, réactions immunoallergiques).

Il peut s'agir de cellules d'aspect « atypique » dont il va falloir s'efforcer de préciser cytologiquement la nature et le degré de maturité. Dans ce cas, l'analyse cellulaire doit tenir compte de plusieurs paramètres: taille, forme du noyau, chromatine, nucléole, cytoplasme, basophilie, limites cytoplasmiques, contenu.

*b. Anomalies morphologiques des leucocytes*

- Granulocytes Neutrophiles

**Tableau XXXII : Anomalies cytoplasmiques des PNN [17].**

Anomalie	Aspect morphologique	Etiologie
Hypogranulation	Un défaut de colorabilité des granulations secondaires	Grands états inflammatoires, Carence en fer Infections aiguës bactériennes ou virales SMD, SMD/SMP, et LAM
Hypergranulation	Une colorabilité anormalement forte des granulations primaires et secondaires, leur membrane étant devenue plus perméable aux colorants.	Infections (surtout bactériennes) Traitement G-CSF, GM-CSF Maladies exceptionnelles
Inclusions bleutées dans les neutrophiles matures	<b>Corps de Döhle :</b> petite inclusion bleue (0.5 – 1µm de diamètre) intracytoplasmique Correspond à un reliquat de l'ARN des précurseurs myéloïdes On en observe 1 à 3 par PNN	Infections sévères des régénérations médullaires Syndromes myélodysplasiques.
	<b>Corps de May-Hegglin :</b> inclusion bleutée (parfois très pâle) en général unique. Présente dans la quasi-totalité des PNN et des éosinophiles.	la maladie de May-Hegglin avec thrombopénie constitutionnelle à plaquettes géantes au cours d'autres macrothrombopénies constitutionnelles rarissimes.

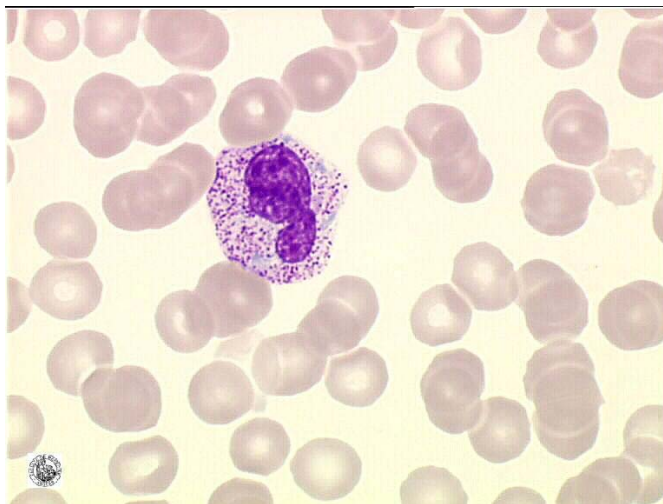
Granulations anormales	volumineuses inclusions rougeâtres ou +/- marron (avec neutropénie), visibles également dans une partie des autres leucocytes sanguins.	<b>Maladie de Chediak-Higashi</b>
	<b>Bâtonnets ou corps d'Auer :</b> Des inclusions anormales formées par la fusion de plusieurs granules primaires Correspondent à de petits bâtonnets rouges (2 - 4 µm de long, très minces le plus souvent)	Pathologie tumorale les hémopathies
	<b>Bactéries intraleucocytaires:</b> cocci ou des bacilles présentent dans des vacuoles hétérogènes en taille et forme.  Les PNN sont souvent très altérés, déformés parfois regroupés en amas	Sepsis très sévère
	inclusion arrondie violacée ressemblant morphologiquement à un corps de Howell -Jolly : Fragment d'ADN ou chromosome sphérisé (coloré par la réaction de Feulgen)  En général unique, et présent dans le cytoplasme d'un petit nombre de PNN	Infection VIH Chimiothérapies
Présence de vacuoles cytoplasmiques	PNN avec vacuoles variables en nombre et en taille, avec parfois tendance à la confluence.	Le sepsis sévère
	PNN avec vacuoles en nombre très élevé (jusque 20-30/ PNN), de taille plus ou moins identique	Prise de toxiques Intoxication aiguë éthylique, Sepsis sévère.

Il y a des autres types des inclusions: cristaux de médicaments, de bilirubine, de cystine, hémozoïne (pigment du paludisme), mélanine (mélanomes), GR (AHAI), cryoglobulines.

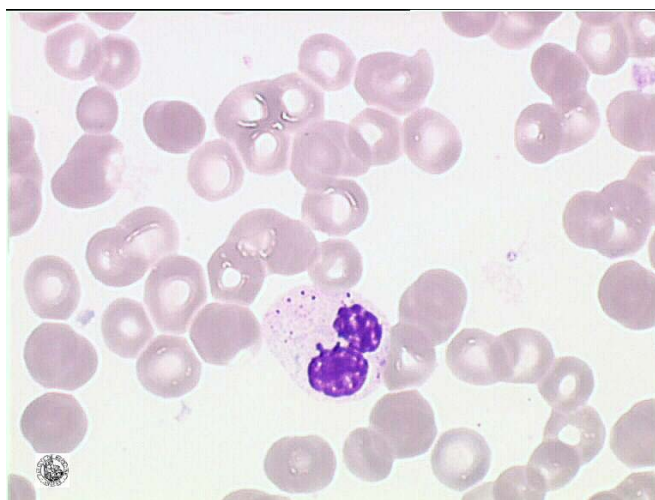
La présence de vacuoles cytoplasmiques a également été rapportée au cours de cryoglobulinémies, de la dystrophie musculaire progressive (anomalie de Jordan).

Tableau XXXIII : Anomalies nucléaires des PNN [17], [45].

Anomalie	Aspect morphologique	Etiologie
<b>Hypersegmentation nucléaire</b>	Plus de 10 % des granulocytes avec 5 lobes et plus associée à une augmentation de taille	Carence en vitamine B12, en folates Chimiothérapies
<b>Hyposegmentation nucléaire</b>	Plus de 25 % de granulocytes matures avec noyau $\leq 2$ lobes	Anomalie de Pelger- Huet: constitutionnelle (exceptionnelle), acquise (SMD / LAM ; LMC accélérée) Diminution du nombre des lobes : infections ou régénérations médullaires avec une myélémie
<b>Condensation excessive de la chromatine nucléaire</b>	Les mottes de chromatine sont très nettement individualisées et entourées d'espaces clairs le plus souvent associée à une hyposegmentation nucléaire.	Origine médicamenteuse (immunodépresseurs, autres) Syndrome de condensation anormale de la chromatine (SMD rare)
<b>Autres anomalies nucléaires</b>	Neutrophiles géants avec noyau +/- rubané.	Dans le sang : carences aiguës en folates (contexte de réanimation ; souvent neutropénie associée). Dans la moelle osseuse : carence en vitamine B12 ou en folates.
	Segmentation nucléaire anormale, avec pseudo-caryoschizes (Présence de pochettes nucléaires (visible aussi post-chimiothérapie) correspondant à une invagination de cytoplasme dans le noyau	Anomalies correspondant à la myélodysplasie des SMD et certaines LAM
	Noyau en gouttelette	nécrobiose des états septiques
	Fragment nucléaires présents dans le cytoplasme aspect assez superposable à celui d'un corps de Howell-Jolly. Intranéutrophiles.	Infection VIH (patients traités, parfois patients non traités). Diverses chimiothérapies (mycophénolate mofetil, tacrolimus, chlorambucil, azathioprine, autres)



**Figure 30** : Neutrophile mature avec granulations nettement visibles et 3 petites zones bleutées cytoplasmique = corps de Döhle [17].

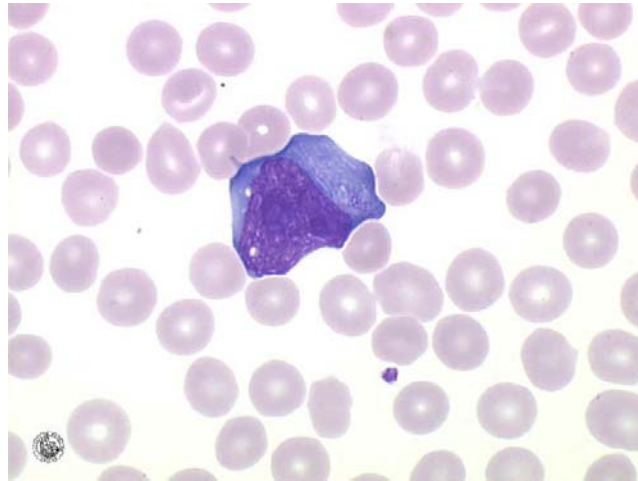


**Figure 31** : Neutrophile avec noyau hypolobé et chromatine hypercondensée [17].

- **Granulocytes éosinophiles et basophiles [46]**

Parmi les principales anomalies le développement des vacuoles généralement par dégranulation de la cellule. Dans les basophilies pathologiques les granulations sont souvent moins abondantes.

- **Anomalies morphologiques des lymphocytes [4]**



**Figure 32 : Lymphocyte activé (immunostimulé) [17].**

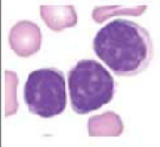
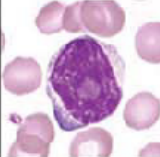
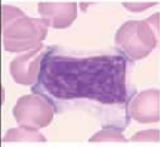
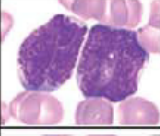


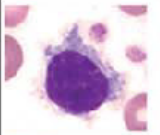
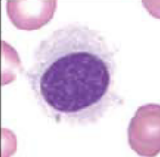
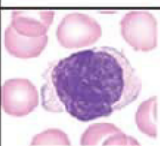

Les lymphocytes atypiques peuvent présenter de grandes variations de taille et de forme. Ils sont plus grands que les lymphocytes normaux et possèdent un cytoplasme étendu, clair à bleu foncé. L'intensité de la coloration est souvent accentuée en bordure de la cellule.

Le cytoplasme peut contenir des granulations azurophiles et des vacuoles. Fréquemment, le noyau est réniforme. La chromatine est plus fine par rapport aux lymphocytes normaux et on note souvent la présence d'un ou plusieurs nucléoles. Les lymphocytes atypiques occupent une position intermédiaire entre les lymphocytes et les plasmocytes.

Leur identification n'est pas toujours facile et l'observateur inexpérimenté peut confondre cette variété de lymphocytes avec des blastes leucémiques. Le polymorphisme cellulaire et l'aspect généralement moins fin de la chromatine plaident en faveur des lymphocytes atypiques probablement néoplasiques.

Les anomalies morphologiques acquises des lymphocytes sont caractéristiques de certaines maladies; les tricholeucocytes dans la leucémie à tricholeucocytes ; Les cellules de Sérazy dans des lymphomes malin à expression clinique dermatologique, et des autres lymphomes à expression sanguine.

Tableau XXXIV : Caractéristiques cytologiques des principales cellules anormales [4].

	Noyau	Chromatine	Nucléole	Cytoplasme	Aspect
Lymphocyte (Ly.)	<b>régulier</b>	<b>dense</b>	<b>absent</b>	peu abondant, faiblement basophile	
Prolymphocyte	Régulier (parfois discrètes irrégularités)	<b>dense</b>	<b>présent, proéminent</b>	bien visible, modérément basophile	
Ly. hyperbasophile	régulier	dense	rare	abondant, basophilie souvent renforcée en périphérie	
Blastes	variable	<b>déliée à fine</b>	<b>fréquent</b>	abondance et basophilie variable, parfois <b>corps d'Auer</b>	
Ly. incisé ou « clivé » (LNH folliculaire)	<b>incisé</b>	dense	absent	à peine ou peu visible, faiblement basophile	
Ly. de LNH à grandes cellules	<b>souvent irrégulier, incisé</b>	<b>dense</b>	<b>assez fréquent</b>	peu abondant, basophile	
Ly. vilieux	régulier	dense	rare	peu abondant, basophile, <b>limites irrégulières, « villosités » polaires</b>	
Tricholeucocyte	régulier ou réniforme	<b>déliée</b>	parfois	<b>abondant, pâle, limites irrégulières de l'ensemble du cytoplasme.</b>	
Cellule de Sézary	<b>cérébriforme "froissé" ou aspect en "coup d'ongle"</b>	déliée	rare	peu à modérément abondant, faiblement basophile	
Ly. HTLV1+	<b>irrégulier, bourgeonnant, en trèfle</b>	dense	rare	peu à modérément abondant, modérément basophile	

L'examen de ces cellules atypiques peut trouver :

- Cellules anormales totalement différentes des cellules circulantes habituelles, mais identifiables, telles des blastes. Une conclusion est difficile sur un faible pourcentage de blastes mais rappelons que le diagnostic de leucémie aiguë peut être porté dès que l'on décompte plus de 20% de blastes. La présence de corps d'Auer est très informative puisqu'elle signe leur nature myéloïde et leur caractère malin (utile en cas de faible pourcentage).
- Cellules d'aspect lymphoïde dont la cytologie est caractéristique: cellules lymphoïdes hyperbasophiles, lymphocytes de leucémie lymphoïde chronique, prolymphocytes, tricholeucocytes, lymphocytes villeux, cellules de Sézary, cellules de leucémie/lymphome associé au virus HTLV1, cellules de lymphomes non hodgkiniens.
- Doute entre blastes (cellules immatures) et cellules lymphoïdes anormales de lymphome non-hodgkinien (cellules lymphoïdes différenciées) par exemple dans certaines formes de lymphome du manteau ou de lymphomes à grandes cellules. Des cellules plasmocytaires très dystrophiques (chromatine assez fine, présence de nucléoles) peuvent être difficiles à reconnaître dans d'exceptionnels cas de leucémie à plasmocytes.

Dans cette situation, il faut décompter les cellules dans une catégorie séparée (cellules difficiles à classer...) et les décrire. Un immunophénotypage sera indispensable pour une identification définitive.

#### **4.3. Lignée plaquettaire et ses anomalies morphologiques [44], [47]**

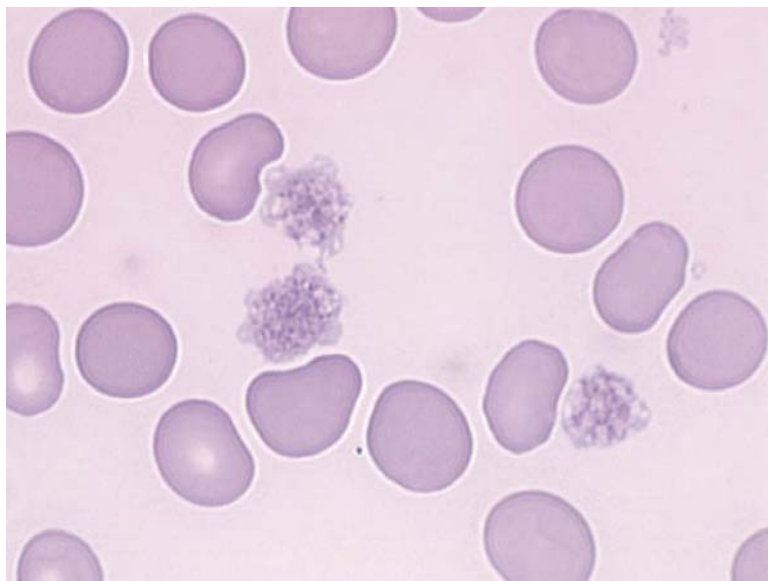
Les plaquettes sont des éléments anucléés, de petite taille (les plus petites présentes dans le sang). La taille est variable de 2 à 5  $\mu\text{m}$ , le contour est irrégulier, souvent vaguement étoilé (alors que dans la circulation, elles sont arrondies ou ovalaires). Le cytoplasme est homogène, incolore ou légèrement basophile (hyalomere), présentant une quinzaine de

granulations azurophiles, rouge vif (chromomère), dispersées ou bien rassemblées au centre simulant un noyau. Le cytoplasme est très riche et on y retrouve :

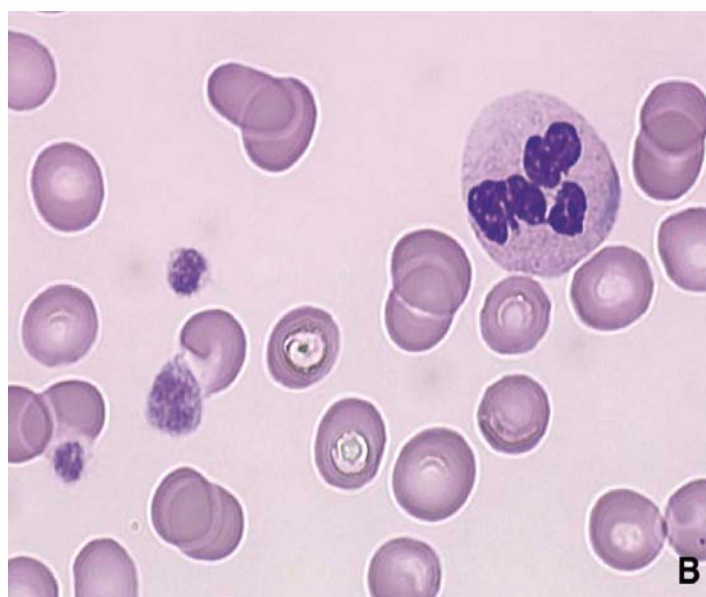
- Des organites : mitochondries, lysosomes, cytosquelette ;
- Des granulations alpha : qui contiennent des facteurs de coagulation, du fibrinogène et des facteurs de croissance ;
- Des granulations denses : elles sont reliées à la membrane et à la surface de la cellule.

L'examen du frottis sanguin coloré au MGG constitue toujours la technique de référence pour l'évaluation de la taille plaquettaire. Les microscopes peuvent être équipés d'un micromètre oculaire gradué qui se superpose à l'image du frottis. En fonction de leur taille, les plaquettes sont classées en plusieurs types : plaquettes normales, plaquettes de petite taille (nommées également microplaquettes), plaquettes de grande taille (macroplaquettes), et plaquettes géantes (de taille supérieure à celle des hématies). L'examen du frottis sanguin a trois objectifs principaux :

La numération plaquettaire obtenue par analyseur d'hématologie; la recherche d'un biais d'analyse plaquettaire: agglutinats plaquettaires, phénomène de satellisation des plaquettes autour des neutrophiles, plaquettes de très grande taille, l'observation des anomalies morphologiques pouvant orienter vers une thrombopathie, par exemple, absence des granules alpha dans le syndrome des plaquettes grises, macroplaquettes et plaquettes géantes associées à des inclusions leucocytaires dans les syndromes May-Hegglin, un granule  $\alpha$  géant unique dans le syndrome Paris-Trousseau, ou bien la présence de nombreux schizocytes associés à une thrombopénie suggérant une anémie hémolytique avec microangiopathie.



**Figure 33** : Plaquettes de grande taille et partiellement dégranulées au cours d'une leucémie myéloïde [17].



**Figure 34** : Association de grandes plaquettes normalement granuleuses et d'inclusions dans les polynucléaires est évocatrice du syndrome de May-Hegglin [17].

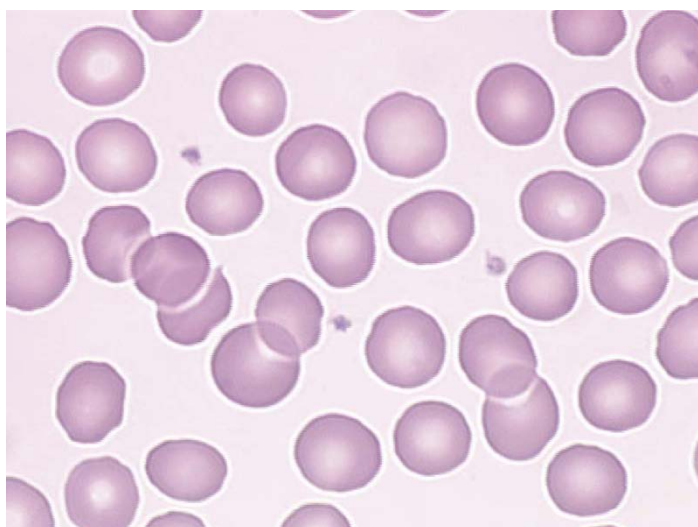


Figure 35 : Plaquettes de petite taille. Syndrome de Wiskott-Aldrich [17].



**Chapitre 2 :**  
**Discussion des résultats**

## I. Données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques

### 1. Identification des patients

Dans notre série, aucune erreur d'identification n'a été objectivée, le nom et le prénom était mentionnés sur la fiche de prescription correspondante. Ceci reflète le niveau de connaissance élevé des prescripteurs et des préleveurs en matière de l'importance de l'identification correcte qui est nécessaire à la réalisation de la numération de formule sanguine [48].

Il est essentiel de garantir l'identification précise des patients, quand des erreurs d'identification, même mineures sont présentes, y aura une discordance entre le résultat biologique et l'état clinique ou que la conduite thérapeutique soit inadéquate ; sans compter le retard diagnostique [49].

### 2. Sexe

Le sexe des patients prélevés est l'un des facteurs importants de variations physiologiques des paramètres de l'hémogramme. Sa mention sur la fiche de prescription est primordiale, il est obligatoire de le prendre en considération lors de l'interprétation des bilans et aussi pour mieux comprendre le contexte clinique [31].

Dans ce cadre plusieurs études, au sein des laboratoires d'hématologie et de biologie, ont montré la variation des intervalles de références (sont définis par une valeur supérieure et une autre inférieure qui ne sont autres que les limites de référence) d'hémogramme en fonction du sexe.

Tableau XXXV : Intervalles de référence des différentes études [50].

	BINET		RABAT		MADAGASCAR	
SEXE	FEMME	HOMME	FEMME	HOMME	HOMME	FEMME
GR (10 <sup>6</sup> /UI)	-	-	3,9-5,96	4,83-7,03	5,3+/-0,01	4,7+/-0,01
HGB (g/dl)	12-16	13-18	10,10-16,97	13,8-20,21	156+/-15,4	135,8+/-20,9
HCT (%)	-	-	31,39-51,64	43,38-61,60	46,6+/-4,9	40,6+/-6,7
VGM (fL)	82-98	82-98	74,00-100,08	77,97-100,56	87,4+/-11,4	86,4+/-11,6
TCMH (pg)	27-32	27-32	19,91-31,97	24,80-32,30	337,8+/-19,6	334,7+/-2,1
CCMH (g/dl)	32-36	32-36	27,50-33,90	29,68-34,20	29,7+/-4,3	29,03+/-4,5
PLQ (10 <sup>3</sup> / UI)	150-400	150-400	121,13-341	108-327,25	249+/-40	275+/-31
GB (10 <sup>3</sup> / UI)	4-10	4-10	5,10-11,58	4,60-13,81	5,23+/- 2,74	6,28+/-3,22
NEUTRO# (10 <sup>3</sup> /UI)	1,5-7	1,5-7	2,05-9,46	1,60-9,80	2,6+/-0,06	3,70+/-0,10
LYMPHO# (10 <sup>3</sup> /UI)	1,5-4	1,5-4	0,42-4,18	0,59-4,41	1,96+/-0,03	1,96+/-0,03
MONO# (10 <sup>3</sup> / UI)	0,1-1	0,1-1	0-1,18	0-1,44	0,36+/-0,03	039+/-0,0
EO# (10 <sup>3</sup> / UI)	0,05-0,5	0,05-0,5	0-0,80	0-0,80	0,23/-004	0,18+/-0,03
BASO# (10 <sup>3</sup> / UI)	0,01-0,05	0,01-0,05	0-0,20	0-0,50	0,023+/-0,001	0,031+/-0,006

Ces valeurs de référence sont un outil indispensable de la biologie médicale et notamment en hématologie. Dans notre enquête le sexe de chaque patient prélevé a été marqué sur sa fiche de prescription correspondante, nous avons une prédominance masculine, avec un sexe ratio à 1,43. L'interprétation des résultats d'hémogramme, se fait en fonction des valeurs de références propres à chaque sexe [31].

Il est bien établi dans la littérature que plusieurs paramètres de l'hémogramme ont des valeurs différentes chez l'homme et chez la femme. Cette variation en fonction du sexe commence dès l'âge de la puberté. Elle est attribuée aux changements physiologiques durant la période pubertaire et est surtout nette pour la lignée rouge, en particulier pour le nombre de GR et une valeur d'hémoglobine [50].

Les implications cliniques de ces variations en fonction du sexe sont variables. Si les différences du taux de l'hémoglobine sont prises en compte sur le plan clinique, les valeurs définissant une anémie sont différemment définies chez les hommes que chez les femmes [51].

### 3. Age

Les valeurs de référence utilisées lors de l'interprétation des hémogrammes sont liées étroitement aux tranches d'âge des patients. La mention de l'âge ou la date de naissance du patient prélevé est indispensable pour une interprétation correcte des résultats [31].

L'influence du facteur « âge » sur les paramètres de l'hémogramme a été largement étudiée dans la littérature. Dans notre série, la répartition en fonction de l'âge faisait ressortir de toutes les tranches d'âges, avec une moyenne d'âge de 44,8ans et des extrêmes allant de 12 mois à 83 ans.

Selon les données de la littérature, c'est chez l'enfant, et notamment avant 4 ans, que les variations de l'hémogramme par rapport à l'adulte sont les plus marquées. Ainsi, des intervalles de référence spécifique doivent être établis. En revanche, il n'y a pas d'arguments dans la littérature pour remettre en cause chez le sujet âgé les valeurs de référence établies pour les plus jeunes. En effet, de nombreuses études ont rapporté des variations minimales de l'hémogramme chez les sujets âgés par rapport aux autres tranches d'âge. Chez les adultes, quel que soit le sexe, des variations de l'hémogramme en fonction des tranches d'âge ont été rapportées. Il est à noter que, même si ces variations sont parfois significatives sur le plan statistique, elles n'ont pas pour autant une signification sur le plan clinique [51].

La date de naissance du patient doit être fournie avec la prescription. La connaissance de l'âge du patient est en effet indispensable, ne serait-ce que pour fournir des valeurs de référence adaptées lors de l'édition du résultat. Ce point est particulièrement important chez l'enfant, de nombreux paramètres se modifiant entre la naissance et l'adolescence. Ainsi, à la naissance, les valeurs normales de l'hémoglobine, du VGM et des leucocytes sont supérieures à celles de l'adulte.

Chez le nourrisson et jusqu'à 4 ans, les valeurs normales d'hémoglobine et du VGM sont inférieures à celles de l'adulte tandis que celle des leucocytes est supérieure en raison de la numération des lymphocytes qui plus élevée.

Des artefacts techniques peuvent exister lors d'analyses réalisées sur du sang fœtal ou du nouveau-né, comme une résistance anormale à la lyse des hématies riches en hémoglobine fœtale. Ce phénomène est responsable d'une surestimation de la numération leucocytaire par les compteurs automatiques (les érythrocytes non lysés étant comptabilisés comme étant des globules blancs). Enfin, la date de naissance apporte un complément d'identification qui est très précieux dans les cas (fréquents) d'homonymie [54].

#### **4. Répartition selon le service d'origine**

Dans notre série, nous avons constaté que la plupart des prélèvements étaient d'origine externe (54%), et le service de médecine interne demande plus des hémogrammes (21%) à cause de la chronicité des maladies de systèmes et qui nécessite le suivi des manifestations hématologiques. Une grande variété de prescriptions provenant de différents spécialistes sont représentées dans notre série.

Selon les recommandations de l'ICSH (International Council for Standardization in Haematology) [53], l'étude de performance des analyseurs d'hématologie les échantillons doit couvrir différents cas cliniques incluant des anomalies hématologiques sévères. Ceci rejoint notre étude avec une grande variété de prescripteurs et des pathologies très variées incluant celles provenant du service d'hématologie clinique.

#### **5. Renseignements cliniques et thérapeutiques**

Il est indispensable que le prescripteur avertisse le laboratoire quand il pense à une pathologie particulière potentiellement à l'origine d'anomalies nécessitant une attention particulière du biologiste.

Dans ce cadre le prescripteur peut demander explicitement une recherche particulière sur frottis, comme par exemple une recherche de schizocytes. La demande doit alors bien entendu être motivée par des renseignements cliniques complets [54].

Les variations pathologiques (insuffisances hépatiques, insuffisance rénale chronique, insuffisances endocriniennes) ainsi que la grossesse [55] peuvent modifier les résultats des hémogrammes. D'où l'intérêt de la mention des renseignements cliniques et thérapeutiques sur les fiches de prescription des patients. Ceci permet au biologiste d'interpréter correctement les résultats, et aussi d'agir en réalisant si nécessaire, des examens complémentaires pouvant apporter plus de précisions aux examens initiaux demandés par le clinicien.

Dans notre série, les indications des hémogrammes demandés ne sont pas mentionnées dans 53 % des cas, Une étude réalisée en 2018 au sein de notre laboratoire portant sur des analyses d'hémostase a objectivé l'absence de mention des renseignements cliniques dans 87% des cas [56].

Ce pourcentage important peut être expliqué par la méconnaissance de l'importance des renseignements cliniques et thérapeutiques en matière d'interprétation des bilans. Et/ou par le nombre important de patients en consultation ou en hospitalisation, rendant difficile aux prescripteurs d'avoir assez de temps pour les mentionner, ou la difficulté de l'interrogatoire avec certains patients mal suivis ou mal observants.

## II. Discussion des alarmes des différentes lignées cellulaires

### 1. Lignée rouge

#### 1.1. Alarme « microcytose »

Durant notre étude, nous avons rencontré l'alarme « microcytose » dans 19 cas. La survenue de cette alarme est très performante avec une sensibilité de 100% et spécificité de 98,7%, elle était source d'un seul faux positif. La VPN était de 100 % et la VPP était de 94,7% avec une concordance de 99%.

Nos données sont comparables à celle des résultats de l'étude du centre universitaire d'Oran en Algérie [7] sur l'automate Beckman Coulter HmXTM où l'alarme de microcytose présentait une sensibilité de 92%, avec une spécificité de 100%, la VPP était de 100% et la VPN était de 95%.

Notre automate Sysmex XT-4000 arrive à différencier entre deux anomalies de taille : anisocytose et microcytose, car nous avons constaté une association concordante de ces 2 alarmes sur différents échantillons après la vérification sur frottis.

En cas de microcytose (VGM < 70 fl entre 6 mois et 2 ans ; < 72 fl entre 2 ans et 6 ans ; < 75 fl au-delà de 6 ans), l'étude de la morphologie érythrocytaire est éventuellement utile lors d'un premier prélèvement pour dépister et orienter le diagnostic d'une anomalie constitutionnelle de l'hémoglobine. Une prestation de conseil formulée à partir de l'interprétation des valeurs de l'hémoglobine et des autres paramètres érythrocytaires sera souvent d'un meilleur apport, signalant l'existence d'une probable carence martiale et l'intérêt d'un bilan martial et inflammatoire, ou la possible existence d'une hémoglobinopathie pouvant justifier la réalisation d'une électrophorèse de l'hémoglobine [57].

L'alarme « microcytose » repose sur la CCMH et VGM selon un algorithme compliqué. Cette alarme signifie la présence d'une population microcytaire. La microcytose avec un VGM diminué est en faveur d'une anémie microcytaire. Elle peut s'associer à un VGM normal en cas

d'une maladie chronique, un déficit ionique (l'hyponatrémie entraîne une tendance microcytaire et hyperchrome) ou la présence de fragments de globules rouges [58].

Il existe plusieurs facteurs influant sur la mesure finale du VGM. Il s'agit de la forme et de la taille de l'ouverture du tube d'impédance électrique, de la présence ou de l'absence de focalisation hydrodynamique et de l'osmolalité du flux de gainage. Ces facteurs influent collectivement le degré de déformation de chaque cellule lors de son passage dans l'ouverture [59].

Il convient également de noter que les cellules présentant une viscosité interne élevée (donc les cellules avec une « CCMH élevée ») se déforment moins et que leur taille est donc surestimée et a contrario, celle des cellules présentant une viscosité interne basse (les cellules avec une « CCMH basse ») est sous-estimée. Seule la taille des cellules présentant une « CCMH élevée » étant surestimée et seule celle des cellules présentant une « CCMH basse » étant sous-estimée, le mélange des deux « normalise » les extrêmes et donc resserre ou réduit la véritable plage de CCMH. Par conséquent, la CCMH a généralement été considérée par le passé, comme étant moins utile qu'un véritable paramètre clinique, mais plus utile qu'un paramètre de contrôle technique [59].

Au cours de la microcytose, la numération des PLT peut être perturbée par les GR microcytaires, notamment si leur taille est <36-40 fL, induisant une possible surestimation de leur nombre. Cependant certains automates ne comptent pas les particules érythrocytaires en deçà du seuil discriminant les GR des PLT : une sous-estimation de la numération des GR peut alors être observée, bien qu'elle reste limitée, ne dépassant pas 5 à 6 % [60].

L'EDTA utilisé comme anticoagulant permet une détermination exacte des divers paramètres de la numération globulaire jusqu'à 24 heures après le prélèvement. Après ce délai, le VGM peut augmenter, notamment si l'échantillon est stocké à température du laboratoire. Les modifications sont signalées comme étant discrètes, de l'ordre de 1,5% après 24 heures et 4% après 48 heures, le stockage prolongé au-delà de 3 jours peut parfois masquer une microcytose

modérée. La numération érythrocytaire et l'Hb sont relativement stables dans les mêmes délais mais la CCMH diminue avec le temps [60].

## **2. Lignée blanche**

### **2.1. Alarme «leucocytose»**

L'alarme « leucocytose » a été déclenchée dans 36 cas. Le nombre des vrais positifs était de 27 cas vérifiés sur frottis. 14 cas étaient en rapport avec une lymphocytose réactionnelle mentionnée par l'automate (alarme lymphocytose), les 13 cas restants correspondaient à une leucocytose à PNN, mais l'automate n'a pas détecté la neutrophilie dans 2 cas.

Notre alarme était alors une source de 9 faux positifs, dont 3 cas correspondant à des plaquettes géantes, 1 cas des agrégats plaquettaires non signalés par l'automate. 2 faux positifs retrouvés dans le cadre d'un syndrome myélodysplasique correspondant à des érythroblastes circulants, pour les 3 faux positifs restant, il s'agissait de globules rouges de tailles différentes : une anisocytose et deux macrocytoses signalées par l'automate et confirmées par le frottis, dont une macrocytose trouvée chez un patient ayant une insuffisance rénale chronique sous hémodialyse périodique.

Nous avons obtenu une spécificité de 87,6% et une VPP de 75%. La sensibilité et la VPN étaient respectivement de 100% par l'absence de faux négatifs et une discordance de 9%.

Chaque particule de taille supérieure à celle d'une PLT et qui n'est pas détruite par les agents hémolysants est identifiée a priori comme un leucocyte et énumérée comme telle par les automates, avec la technique de mesure par impédance tout comme avec la méthode de diffraction optique. Certains automates proposent une numération des leucocytes après addition d'agents de lyse drastiques qui détruisent les GR et les membranes leucocytaires tout en respectant les noyaux leucocytaires, à l'exception des granulocytes basophiles qui restent intacts. Ce canal de numération des leucocytes est encore appelé canal basophiles, Une numération leucocytaire est réalisée en parallèle de la formule sur ce canal formule leucocytaire (Canal DIFF) [61].

Les agrégats plaquettaires ont une taille variable et parfois proche de celle des leucocytes et peuvent être énumérés comme tels, induisant une fausse hyperleucocytose. Dans le canal énumérant les noyaux leucocytaires («canal basophiles») l'agent de lyse détruit les agrégats de PLT et la numération leucocytaire proposée est exacte. Par contre si un décompte est réalisé dans le canal « formule » les agrégats de PLT ne sont pas détruits : ils sont inclus parmi les leucocytes et induisent un résultat faussement augmenté, c'était le cas de notre automate XT4000i [62]. Certains automates peuvent quantifier ces agrégats et proposer une numération et une formule leucocytaires corrigées (Siemens) [61].

Tout comme pour les amas de plaquettes, ces plaquettes géantes sont détruites dans le canal de numération leucocytaire « basophiles » et la numération proposée dans ce canal est donc exacte. Quand on ne dispose pas de la technologie de double décompte dans deux canaux différents, il faut être prudent avec le nombre des leucocytes fourni par l'automate.

Lors de la dilution dans le canal « formule leucocytaire » les agents de lyse des GR agissent également sur les érythroblastes en détruisant leur membrane mais respectent leur noyau : les anomalies du décompte leucocytaire sont liées à la présence de ces noyaux d'érythroblastes. Leur taille (30 – 50 fL) superposable à celle des amas de plaquettes ou des plaquettes géantes explique qu'ils perturbent la numération des leucocytes de manière assez similaire à celles des amas de PLT et qu'ils génèrent souvent des messages signalant indifféremment l'existence de l'un ou/et l'autre de ces artefacts [61].

Dans notre série, les 2 faux positifs correspondent à des érythroblastes circulants, l'automate a signalé les alarmes leucocytoses, érythroblastes, et agrégats plaquettaires en même temps par manque de précision et d'exactitude. il faut bien comprendre si, quand et comment apparaît l'alarme d'érythroblastes, créer un protocole de décompte sur frottis sanguin et réaliser manuellement la soustraction des érythroblastes du nombre brut des leucocytes [61] selon la formule suivante : Taux de leucocytes corrigé =  $\frac{\text{Nombre de leucocytes} \times 100}{\text{nombre d'érythroblastes} + 100}$ .

Certains GR peuvent ne pas être détruits par les agents de lyse chez les nouveau-nés, ou en pathologie au cours de maladies hépatiques, dans l'insuffisance rénale, au cours des chimiothérapies ou de certaines hémoglobinoses [63]. Ces globules résistants à la lyse peuvent provoquer une fausse augmentation de la numération leucocytaire. Dans le canal « numération leucocytaire » l'agent de lyse détruit habituellement (mais pas toujours) les GR, et le décompte des leucocytes n'est que très inconstamment perturbé.

Nous avons noté que l'alarme « leucocytose » est une alarme accompagnant d'autres alarmes de différentes lignées cellulaires : Neutrophilie (11 cas), monocytose (7 cas), éosinophilie (6 cas), lymphocytose (14 cas), érythroblastes (2 cas), macrocytose (10 cas), agrégats plaquettaires (8cas). L'automate n'arrive pas à détecter avec précision la nature de ces éléments circulants, La précision des messages d'alerte vis-à-vis d'une anomalie spécifique présente une bonne sensibilité mais une spécificité modeste.

## **2.2. Alarme « lymphocytose »**

L'hyperlymphocytose est une anomalie fréquente de l'hémogramme découverte le plus souvent de façon fortuite lors d'un bilan sanguin. Sans conséquence dans de nombreuses situations bénignes (infections virales notamment), elle peut également être le reflet d'un syndrome lymphoprolifératif (Leucémie lymphoïde chronique ou phase de dissémination d'un Lymphome non hodgkinien...).

A la différence des hyperlymphocytoses malignes, l'hyperlymphocytose réactionnelle est transitoire et peut s'accompagner ou non de la présence de lymphocytes hyperbasophiles.[64]

Devant une anomalie quantitative des lymphocytes, le laboratoire doit : écarter une leucémie aiguë ; affirmer une lymphocytose réactionnelle (syndrome mononucléosique [MNI], virus Epstein-Barr [EBV], cytomegalovirus [CMV], toxoplasmose, virus de l'immunodéficience humaine [VIH], etc.), ou lymphocytose banale (coqueluche, allergies médicamenteuses, maladies auto-immunes, lymphocytose de stress, etc.) ; et de suspecter, affirmer, classer un syndrome lymphoprolifératif (SLP) [65].

Notre automate rapportait une excellente sensibilité de 100%, et une grande spécificité de 98.7%, la VPP et VPN étaient de 100% avec une concordance de 99%.

La sensibilité des automates pour détecter des anomalies est assez bonne, mais ils peuvent être mis en défaut lorsque les cellules diffèrent peu des lymphocytes normaux (type centrocytes des lymphomes folliculaires) ou quand les cellules atypiques sont peu nombreuses (faible spécificité de la fluorescence dans la différenciation des cellules lymphoïdes atypiques en rapport avec les différents SLP). En outre, ils manquent de spécificité.

### **2.3. Alarme « lymphocytes atypiques »**

Dans notre série, cette alarme est rencontrée dans 6 cas dont 4 cas correspondent à des vrais positifs : 2 cas de lymphocytes activés et 2 cas de lymphocytes atypiques suspects. Nous avons constaté que les alarmes des vrais positifs sont toujours accompagnées d'alarme de leucocytose sans d'autres messages ou d'alarme telle que grandes cellules immatures ou blastes.

Cette alarme présentait deux faux positifs, La sensibilité et la valeur prédictive négative étaient de 100% car notre automate n'a pas engendré de faux négatifs, la spécificité était de 95,9% et la valeur prédictive positive était de 33.3% avec une concordance de 98% sur le nombre total des échantillons.

L'évaluation de l'analyseur d'hématologie cytométrique Beckman Coulter HmXTM au centre hospitalo-universitaire d'Oran [7] en Algérie sur 126 échantillons, rapportait des valeurs excellentes comparables à la nôtre, la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 100% et 96%, la VPP était de 66% et la VPN était de 100%.

L'étude comparative de la gamme des 5 analyseurs hématologiques avec des méthodes de mesures différentes: Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, et Sysmex XN-2000 au sein du laboratoire central de l'hôpital universitaire Ludwig-Maximilians en Allemagne [66] sur 349 échantillons. L'automate XN-2000

rapporte la meilleure fiabilité dans cette étude par une sensibilité de 80% et une spécificité de 95%. (Tableau XXXVI)

**Tableau XXXVI : Performance analytique d'alarme «lymphocytes atypiques»  
des 5 analyseurs [66].**

Automates	Sensibilité %	Spécificité %	Vrais positifs	Faux positifs
Sapphire	56	94	14	18
DxH800	64	94	16	18
Advia 2120i	72	88	18	40
XE-5000	80	95	20	17
XN-2000	80	95	20	14

L'étude de la fidélité des alarmes de l'automate XE-2100 [67] au laboratoire d'hématologie brésilien en 2014 a obtenu les valeurs suivantes : une spécificité importante de 94,1%, une sensibilité acceptable de 65,2 %. Les VPP et les VPN étaient respectivement de 40,5% et 97,7%.

Une étude espagnole comparative [68] de 2 automates de Sysmex de différentes séries a rapporté des sensibilités et des spécificités moyennes de cette alarme avec un nombre important des faux positifs en comparaison avec notre automate. (Tableau XXXVII)

**Tableau XXXVII : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypique » des deux automates  
de Sysmex [68].**

Automates	Vrais positifs	Faux positifs	Vrais négatifs	Faux négatifs	Sensibilité	Spécificité
Sysmex XN-2000	13	25	75	13	67,9	76,7
Sysmex XE-5000	15	32	68	11	57,7	68

## Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

---

Les deux automates Beckman Coulter DxH 800 [69] et le Sysmex XN -3000 étaient moins fiables, selon une étude comparative à la faculté de médecine d'Istanbul au département de biologie, la sensibilité des alarmes des deux automates était faible, par contre ils sont plus spécifiques aux lymphocytes atypiques précisément les alarmes signalées par Beckman Coulter DxH 800. (Tableau XXXVIII)

Les deux automates utilisent différentes méthodes de mesure combinant : l'impédance, la cytométrie de flux par fluorescence pour compter les GB, les GR, et PLT.

**Tableau XXXVIII : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypiques » des deux automates Beckman Coulter DxH 800 et Sysmex XN -3000 [69].**

Automates	Vrais positifs	Faux positifs	Vrais négatifs	Faux négatifs	Sensibilité	Spécificité
Sysmex XN-3000	7	31	57	7	50	64,7
Beckman Coulter DxH 800	4	6	82	10	28,5	93,2

L'alarme de l'automate NX -9000 évaluée au cours d'une étude en 2018 au Afrique du sud [70] était moins performante avec une sensibilité de 74 % et une spécificité de 73 %, le nombre des faux positifs était de 18, et les faux négatifs était de 8.

**Tableau XXXIX : Performance analytique d'alarme « lymphocytes atypiques » des différentes études.**

Automates	Ville/ Pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Beckman Coulter HmXTM [7]	Oran /Algérie	2013	100	96
Sapphire [66]	Munich/Allemagne	2014	56	94
DxH800 [66]	Munich/Allemagne	2014	64	94
Advia 2120i [66]	Munich/Allemagne	2014	72	88
XE-5000 [66]	Munich/Allemagne	2014	80	95
XN-2000 [66]	Munich/Allemagne	2014	80	95
XE-2100 D [67]	Paraná/Brésil	2014	65,2	94,1
Sysmex XN-2000 [68]	Donostia/Espagne	2016	67,9	76,7
Sysmex XE-5000 [68]	Donostia/Espagne	2016	57,7	68
Sysmex XN-3000 [69]	Istanbul/Turquie	2017	50	64,7
Beckman Coulter DxH 800 [69]	Istanbul/Turquie	2017	28,5	93,2
Sysmex XN-9000 [70]	Johannesburg /Afrique du sud	2018	74	73
Notre étude : XT- 4000i	Marrakech/Maroc	2020	100	95,9

Les alarmes « lymphocytes atypiques » de notre automate et celle Beckman Coulter HmXTM rapportent la meilleure fiabilité.

**2.4. Alarme « granulocytes immatures »**

Les granulocytes immatures sont normalement non ou très peu présents dans le sang périphérique. Leur présence ou celle de leurs précurseurs granulocytaires définissent la myélémie.

Cette alarme a été rencontrée dans 22 cas, dont seulement trois correspondent à une myélémie. La spécificité était de 80,2% en relation avec 19 faux positifs et une VPP de 13,6 %, la sensibilité était de 75% car cette alarme est génératrice d'un faux négatif qui correspond d'une myélémie chez un patient ayant un syndrome myélodysplasique, la VPN était égale à 98,7%, généralement notre alarme était discordante dans 20% des cas.

Nous avons réalisé une comparaison de nos résultats avec les différentes séries de la littérature.

Une analyse comparative des automates Abbott Sapphire, Siemens Advia 120, Beckman Coulter DxH 800, et Sysmex XE-2100 réalisée à l'hôpital universitaire d'Erlangen et publiée par une association américaine en 2013 sur 202 échantillons [71] a objectivé des sensibilités modestes par rapport à la nôtre. La spécificité de cette série s'approche également à nos résultats. (Tableau XL)

**Tableau XL : Fiabilité d'alarme « granulocytes immatures » des 4 automates [71].**

<b>Automates</b>	<b>Sensibilité %</b>	<b>Spécificité %</b>
Sapphire	62	82
Advia 120	56	89
Sysmex XE-2100	56	84
Coulter DxH 800	73	84

L'étude comparative de la gamme des 5 analyseurs hématologiques (Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, et Sysmex XN-2000) menée par Mathias Bruegel, en Allemagne [66] sur 394 échantillons a obtenu les résultats suivants :

**Tableau XLI : Comparaison de la performance analytique d'alarme « granulocytes immatures » de 5 automates [66].**

Automates	Sensibilité %	Spécificité %	Vrais positifs	Faux positifs
Sapphire	54	91	49	24
DxH800	67	94	60	16
Advia 2120i	39	96	35	11
XE-5000	80	92	72	21
XN-2000	91	86	82	35

Dans cette série, la sensibilité du XN-2000 est très supérieure de la nôtre et du reste de la gamme. En revanche Advia 2102i engendre peu des faux positifs ce qui explique la grande spécificité de cette alarme par rapport à notre automate XT4000i et par rapport aux autres automates de la série.

Dans ce cadre, une étude espagnole en 2016 [68] avait pour but de comparer la performance analytique des deux séries différentes de Sysmex (XN-2000 et XE-5000) sur 206 échantillons.

Les 2 séries XN-2000 et XN-5000 avaient une sensibilité aux granulocytes immatures inférieure à notre série XT-4000i, les 2 automates étaient à l'origine du nombre élevé des faux négatifs (17 et 18). La spécificité de l'automate XE-5000 est la meilleure car elle est génératrice du moindre nombre de faux positifs. (Tableau XLII)

**Tableau XLII : Performance analytique d'alarmes « granulocytes immatures » des deux automates Sysmex XN-2000 et Sysmex XE-5000 [68].**

Automates	Vrais positifs	Faux positifs	Vrais négatifs	Faux négatifs	Sensibilité	Spécificité
Sysmex XN-2000	36	17	56	17	67,9	76,7
Sysmex XE-5000	35	12	61	18	66	83,6

Par ailleurs, une étude menée par S.Genc au département de biologie à l'université d'Istanbul en Turquie [69] a comparé la fiabilité des alarmes « granulocytes immatures » des deux automates XN-3000 et DxH 800 sur 102 échantillons. (Tableau XLIII)

**Tableau XLIII : Performance analytique d'alarmes « granulocytes immatures » des deux automates Sysmex XN-3000 et Beckman coulter DxH 800 [69].**

Automates	Vrais positifs	Faux positifs	Vrais négatifs	Faux négatifs	Sensibilité	Spécificité
Sysmex XN-3000	44	19	36	3	93,6	65.5
Beckman coulter DxH 800	26	6	49	21	55.3	89.1

Sysmex XN-3000 rapporte la sensibilité (93,6%) la plus importante par rapport à la nôtre avec un nombre très faible des faux négatifs, Beckman coulter DxH 800 présente une spécificité supérieure à celle calculée dans notre série (80,2%) et aussi à celle de sysmex XN-3000 avec un nombre de 6 faux positifs qui était petit en comparaison à notre automate (19 faux positifs ).

## Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

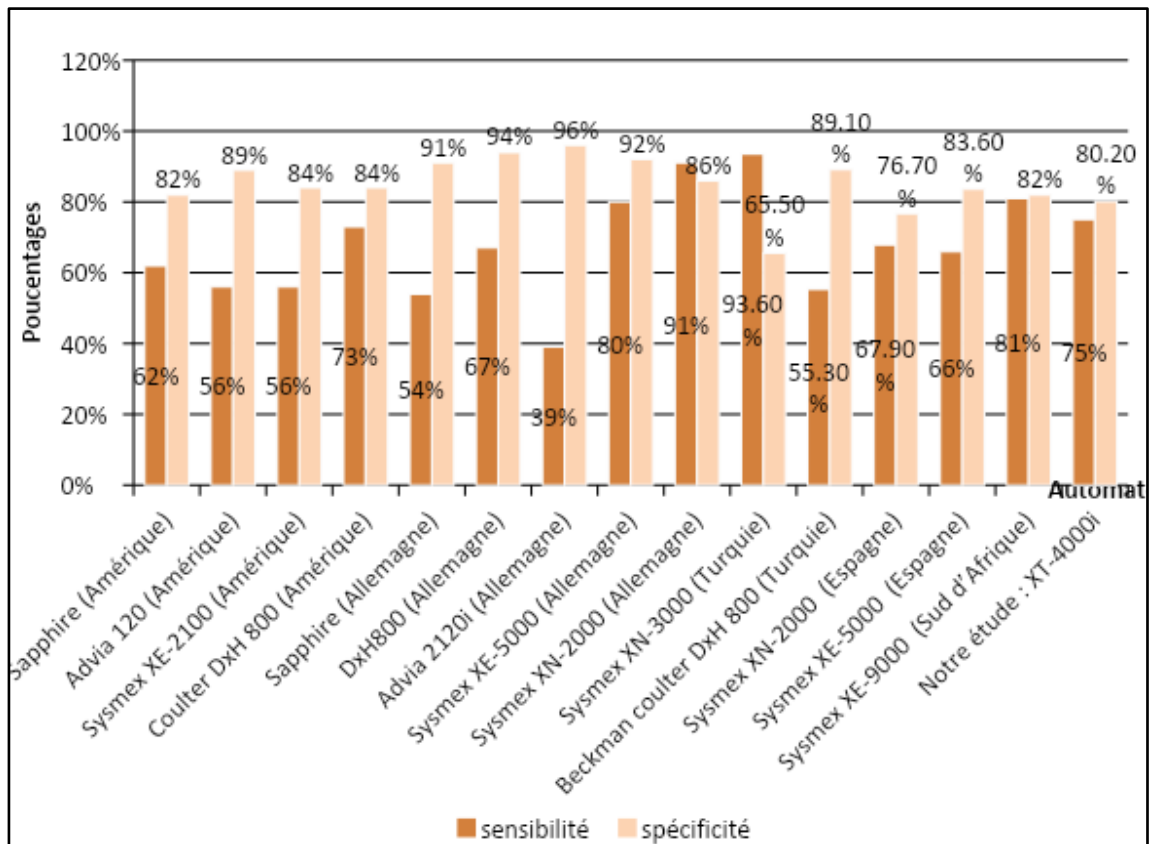
L'automate XN-9000 [72] de la société Sysmex a rapporté une sensibilité de 81% meilleure qu'à la nôtre et une spécificité de 82 % semblable à notre valeur. Le nombre des faux positifs était de 6 et les faux négatifs étaient de 4.

**Tableau XLIV : Performance analytique d'alarme « granulocytes immatures » des différentes études.**

Automates	Ville/Pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Sapphire [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	62	82
Advia 120 [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	56	89
Sysmex XE-2100 [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	56	84
Coulter DxH 800 [71]	Erlangen /Allemagne	2013	73	84
Sapphire [66]	Munich/Allemagne	2014	54	91
DxH800 [66]	Munich/Allemagne	2014	67	94
Advia 2120i [66]	Munich/Allemagne	2014	39	96
Sysmex XE-5000 [66]	Munich/Allemagne	2014	80	92
Sysmex XN-2000 [66]	Munich/Allemagne	2014	91	86
Sysmex XN-2000 [68]	Donostia/Espagne	2016	67,9	76,7
Sysmex XE-5000 [68]	Donostia/Espagne	2016	66	83,6
Sysmex XN-3000 [69]	Istanbul/Turquie	2017	93,6	65.5
Beckman coulter DxH 800 (Turquie) [69]	Istanbul/Turquie	2017	55.3	89.1
Sysmex XE-9000 [72]	Johannesburg /Afrique du sud	2018	81	82
Notre étude : XT-4000i	Marrakech/maroc	2020	75	80,2

## Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

Sysmex XN-3000 avait la meilleure sensibilité, par contre Advia 2120i rapportait la plus grande spécificité.



**Graphique 31:** Performance analytique d'alarme « granulocytes immatures » des différentes études.

Les automates d'hématologie formule complète Sysmex (XS-série, XT-série, XE-série) utilisent la technologie de cytométrie de flux avec marquage par la fluorescence des acides nucléiques pour la mesure des leucocytes. Cette analyse permet également de séparer et quantifier les granulocytes immatures. Ainsi, la valeur absolue et le pourcentage des granulocytes immatures est donnée par ces automates comme paramètre de routine grâce au logiciel XT- et XE- IG-Master. Le paramètre granulocytes immatures comprend les métamyélocytes, myélocytes et promyélocytes [73].

Plusieurs travaux d'évaluation sur les automates Sysmex ont confirmé une très bonne corrélation entre le comptage automatique des granulocytes immatures et la cytométrie de flux utilisant les anticorps monoclonaux CD11b, CD16 et CD45, et aussi la méthode de comptage manuel; avec une excellente reproductibilité et précision pour le comptage automatique sur automates Sysmex. Ce qui a permis d'adopter un protocole standard d'utilisation de ce paramètre rendu par l'automate en pratique de routine. Les intervalles de références du compte des granulocytes immatures a été défini à 0-1 % et de 0-0.5 % ou  $0.03 \times 10^9/L$  pour les analyseurs Sysmex chez les adultes [73].

En général au laboratoire, lorsque les résultats des patients présentent une alarme « granulocytes immatures », une lame est réalisée pour leur comptage et leur morphologie selon les recommandations de la société Megaflex Maroc [35] :

- Quantification des immatures granuleux (IG%).
- Si inférieur de 2% ne pas faire du frottis.
- Si entre 2 et 4% rendre le chiffre d'IG %.
- Si supérieur de 4% faire le frottis pour corriger la formule leucocytaire.

#### **2.5. Alarme « blastes »**

Les blastes font l'objet d'une lignée séparée sur le compte rendu. La seule terminologie «blastes» est retenue et englobe blaste, lymphoblaste, myéloblaste, promyélocyte (LAM3), monoblaste, promonocyte. Il est admis que cette terminologie de blastes comporte une connotation d'hémopathies malignes.

Leur observation est possible chez le nouveau-né en dehors d'un contexte pathologique. Il n'existe pas de consensus clairement établi, cependant les recommandations sont de ne pas les signaler spécifiquement s'ils sont inférieurs à 5 % des leucocytes. Leur observation fortuite est possible chez le sujet adulte sain, il s'agit alors de cellules souches physiologiques (environ 1 à 5 cellules par mL). Le décompte (sur 200 ou 300 cellules) est très inférieur à 1 %, leur

morphologie n'est pas suspecte et le reste du bilan est normal. Dans ce cas, la recommandation est de ne pas les faire figurer sur le compte rendu de résultat [65].

Dans notre série, les alarmes « blastes » ont été rencontrées dans 7 cas dont le nombre des vrais positifs étaient de 2. Ces deux alarmes blaste sont déclenchées sur 2 hémogrammes (intervalle de 40 jours) chez le même patient ayant un syndrome myélodysplasique depuis un an associé à une myélofibrose, le taux de blastes était de 6% sur les 2 bilans selon l'examen microscopique avec la présence de signes de dysgranulopoïèse.

La spécificité de 94,8 % et la VPP de 28,5% étaient en relation avec les 5 faux positifs retrouvés, dans ce cas le comptage manuel et la correction de la formule leucocytaire reste primordiale selon les recommandations de la GFHC [34] et le protocole de validation rédigé par le département scientifique de la société Megaflex [35].

La sensibilité et la VPN étaient de 100% (l'absence des faux négatifs), notre automate n'a pas passé à côté des cellules blastes dans les 100 échantillons, la concordance était de 95%.

Une étude allemande publiée par la Société américaine de pathologie clinique [71] sur 202 échantillons sanguins des patients hospitalisés en service d'hématologie, cette étude évalue la performance analytique de 4 automates, (Abbott Sapphire, Siemens advia 120, Sysmex XE-2100, et Beckman Coulter DxH 800).

L'alarme « blaste » signalée présente des spécificités et des sensibilités variables selon chaque automate (Tableau XLV), l'automate Sysmex XE-2100 rapportait la meilleure fiabilité dans cette étude.

**Tableau XLV : Spécificité et sensibilité de l'alarme « blastes » des 4 automates [71].**

Automates	Sensibilité %	Spécificité %
Abbott Sapphire	65	86
Siemens Advia 120	71	67
Sysmex XE-2100	94	80
BeckmanCoulter DxH 800	82	80

Concernant l'évaluation de l'analyseur d'hématologie Beckman Coulter HmXTM dans le centre hospitalo-universitaire d'Oran [7] sur 125 échantillons, l'alarme « blastes » avait une sensibilité de 70%, une spécificité de 84%, une VPP de 33% et une VPN de 95%.

Dans une étude française prospective réalisée en 2019 concernant la performance de l'alarme « Blastes » sur ADVIA 2120/2120i [74], sept sites hospitaliers ont été inclus et 148 144 échantillons de patients hospitalisés ont été testés durant 4 mois.

La sensibilité et la spécificité de l'alarme « Blastes » étaient respectivement de 89,04 % et de 98,87%. Les valeurs prédictives négatives et positives étaient respectivement de 99,97 % et de 16,68 %.

L'étude comparative de la gamme des 5 analyseurs hématologiques (Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, et Sysmex XN-2000) au sein du laboratoire central de l'hôpital universitaire [66] a noté pour l'alarme « blastes » des valeurs importantes des faux positifs avec un minimum de 6 pour l'automate XE-5000 et un maximum de 21 signalés par l'automate Sapphire, ces valeurs restent plus importantes que les nôtres (5 faux positifs). Les sensibilités et les spécificités de cette gamme sont comme suit :

**Tableau XLVI : Comparaison de la performance analytique de l'alarme « blastes » de 5 automates [66].**

Automates	Sensibilité %	Spécificité %	Vrais positifs	Faux positifs
Abbott Cell-Dyn Sapphire	76	93	26	21
Beckman Coulter DxH 800	74	95	25	15
Siemens Advia 2120i	65	97	22	12
SysmexXE-5000	65	98	22	6
SysmexXN-2000	97	96	33	14

L'alarme « blastes » de l'automate de sysmex XN-2000 rapportait la meilleure performance dans cette gamme.

Les résultats obtenus lors de l'analyse de la performance de l'alarme « blastes » au département d'hématologie à l'université d'Istanbul en 2017 [69] lors de la comparaison de la performance des alarmes « blastes » des deux analyseurs hématologiques automatisés : Sysmex XN- 3000 et Beckman Coulter DxH 800. (Tableau XLVII)

L'automate XN-3000 rapportait une sensibilité de 72,2% avec 5 faux négatifs, et une spécificité de 67.8% dont le nombre des faux positifs était de 27.

Beckman coulter DxH800 présentait une sensibilité de 55.5% avec un nombre de faux négatifs de 8 et une spécificité de 89,2% plus élevée avec seulement 9 faux positifs.

L'alarme « blaste » des 2 automates est moins performante que la nôtre.

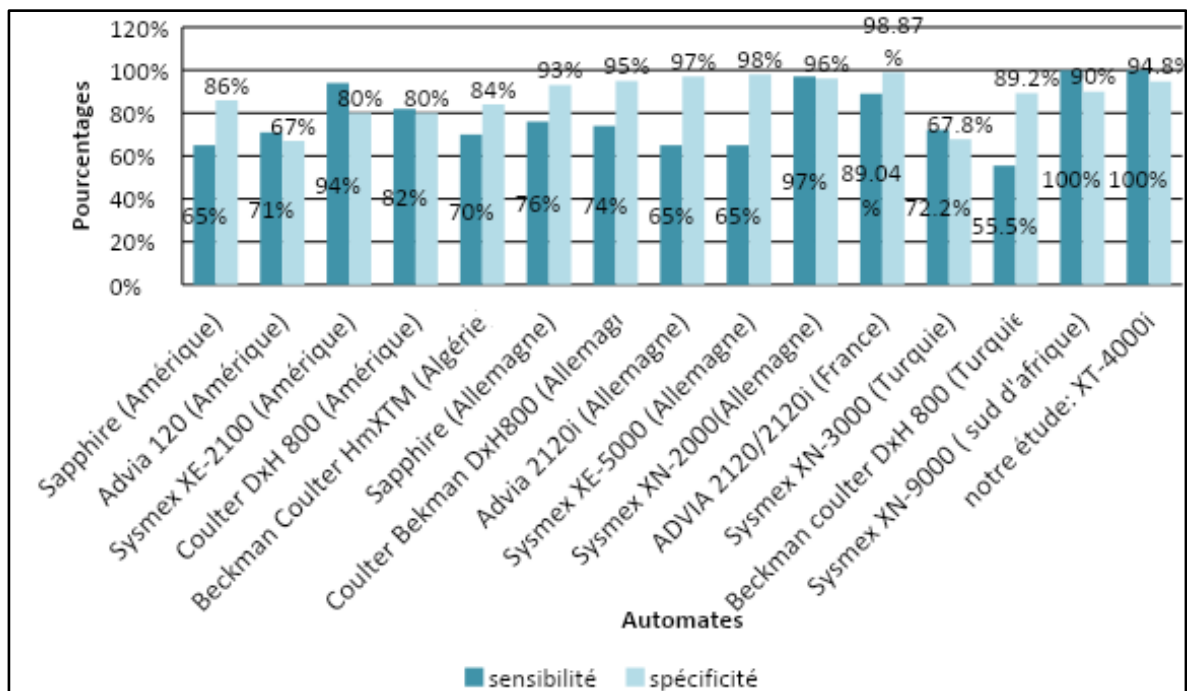
**Tableau XLVII : Comparaison de la performance de l'alarme « blastes » par les deux automates XN-3000 et DxH 800 [69].**

Automates	Vrais positives	Faux positive	Vrais négatifs	Faux négatifs	Sensibilité	Spécificité
Sysmex XN-3000	13	27	57	5	72.2	67.8
Beckman coulter DxH 800	10	9	75	8	55.5	89.2

Dans l'étude sud-africaine « Évaluation de la performance des nouveaux canaux de mesure sur l'analyseur d'hématologie Sysmex XN-9000 » [72] l'alarme « blastes » a été signalée dans 196 échantillons, les faux négatifs et la sensibilité étaient respectivement de 0 et 100% ; le nombre des faux positifs était de 19 avec une bonne spécificité de 90%, la performance analytique de cet automate est semblable à notre automate.

**Tableau XLVIII : Sensibilité et spécificité de l'alarme « blastes » dans les différentes séries.**

Automates	Ville/pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Abbott Sapphire [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	65	86
Siemens Advia 120 [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	71	67
Sysmex XE-2100 [71]	Erlangen/ Allemagne	2013	94	80
Beckman Coulter DxH 800 [71]	Erlangen /Allemagne	2013	82	80
Beckman Coulter HmXTM [7]	Oran/Algérie	2013	70	84
ADVIA 2120/2120i [74]	Sud de l'Oise /France	2013	89,04	98,87
Abbott Cell-Dyn Sapphire [66]	Munich/Allemagne	2014	76	93
Beckman Coulter DxH 800 [66]	Munich/Allemagne	2014	74	95
Siemens Advia2120i [66]	Munich/Allemagne	2014	65	97
Sysmex XE-5000 [66]	Munich/Allemagne	2014	65	98
Sysmex XN-2000 [66]	Munich/Allemagne	2014	97	96
Sysmex XN-3000 [69]	Istanbul/Turquie	2017	72.2	67.8
Beckman coulter DxH 800 [69]	Istanbul/Turquie	2017	55.5	89.2
Sysmex XN-9000 [72]	Johannesburg /Afrique du sud	2018	100	90
Notre étude Sysmex XT-4000i	Marrakech /maroc	2020	100	94,8



**Graphique 32** : Sensibilité et spécificité de l'alarme « blastes » des différentes séries.

## 2.6. Alarme « érythroblastes »

L'alarme « érythroblastes » a été signalée dans 14 cas, cette alarme était responsable de 10 faux positifs avec une spécificité de 89,6% et une VPP de 28,6%, la sensibilité était de 100% et VPN de 100, la discordance était de 10%.

L'alarme « érythroblastes » avait seulement 4 vrais positifs, dont un cas correspondant à un taux d'érythroblastes circulants à 49 pour 100 GB. Les alarmes « érythroblastes » et « granulocytes immatures » ont été signalées ensemble dans 7 formules alarmées, cette association était concordante seulement dans un cas selon l'examen microscopique qui a confirmé la myélémie.

L'alarme « déviation gauche » qui correspond à une déviation de la formule d'Arneth à gauche désignant l'hyposegmentation des PNN a été déclenchée avec l'alarme « érythroblastes » dans 2 cas, la déviation à gauche de la formule d'Arneth désigne la multiplication de neutrophiles non segmentés ou l'apparition de leur précurseurs dans le sang périphérique [75].

La cause varie selon le type de déviation à gauche : réactive ou pathologique. L'alarme « érythroblastes » a été déclenchée seule dans 4 cas dont une était une vraie positive.

Nous avons noté que l'automate ne distingue pas avec précision la présence des érythroblastes. Il déclenche plusieurs types d'alarmes de cellules anormales circulantes en même temps, donc seul le frottis peut préciser la nature de ces cellules.

Selon les recommandations de GFHC, en situation initiale ou en suivi, cette alarme nécessite la réalisation d'une formule optique si l'automate n'effectue pas la quantification de cette population. Avec les automates qualifiés pour ce type de numération et en fonction des recommandations du fabricant, il est préconisé de revoir le frottis en situation initiale, mais celui-ci n'apparaît pas indispensable au cours du suivi [76].

Le même constat a été signalé à l'étude de l'automate XN-9000 au département de médecine moléculaire en Afrique du sud [70], alarme « érythroblastes » était sensible à 100% avec une spécificité de 89%.

L'évaluation de l'analyseur d'hématologie Beckman Coulter HmXTM dans le centre hospitalo-universitaire d'Oran [7], alarme « érythroblastes » rapporte une excellente performance avec une spécificité de 100%, et une sensibilité de 80%.

Une étude comparative du prototype de Alinityhq et CELL-DYN sapphire, des automates de la même société Abbott [77] en 2019 A l'université de Bruxelles en Belgique sur 398 échantillons, Alinityhq est un nouvel analyseur d'hématologie à haut débit. Alinityhq utilise des principes optiques pour toutes les mesures. La sensibilité d'alarme des érythroblastes pour le prototype est plus importante par rapport à celle de CELL-DYN, en revanche les 2 automates ont une meilleure spécificité.

**Tableau XXLIX : Sensibilité et spécificité des alarmes « érythroblastes » des différents automates.**

Automates	Ville/ Pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Beckman Coulter HmXTM [7]	Oran / Algérie	2013	80	100
Sysmex XN-9000 [70]	Johannesburg /Afrique du sud	2018	100	89
Alinityhq [77]	Bruxelle / Belgique	2019	89	99
Cell-Dyn sapphire [77]	Bruxelle / Belgique	2019	63	96
Notre automate sysmex XT-4000i	Marrakech/Maroc	2020	100	89,6

La présence d'érythroblastes constituerait un problème de la numération leucocytaire sur les premières générations d'AHC, et interfère jusqu'à maintenant sur les automates d'hématologie cellulaire d'entrée de gamme en provoquant une surestimation du nombre des leucocytes. La formule leucocytaire est alors perturbée, et la localisation habituelle des noyaux d'érythroblastes près ou au niveau du nuage des lymphocytes entraîne une surestimation du nombre de ces derniers. Les automates les plus élaborés signalent l'existence des érythroblastes et peuvent les compter, soit dès le premier passage de l'échantillon (Siemens, Abbott, Beckman) soit secondairement (Horiba, Sysmex), le résultat de la numération leucocytaire étant ensuite directement corrigé [61].

### 3. Lignée plaquettaire

La numération plaquettaire constitue un examen capital, dont les résultats influent sur les décisions d'ordre clinique ou thérapeutique.

#### 3.1. Alarme « thrombopénie »

Les alarmes de thrombopénie sont rencontrées sur 32 échantillons, la sensibilité était de 100% avec une VPN de 100% car notre automate n'était pas source des faux négatifs. La spécificité était aussi importante de 95,7% avec un nombre faible des faux positifs: un cas d'une fausse thrombopénie par la présence d'agrégats plaquettaires et 2 cas par la présence des plaquettes géantes. La VPP était de 90,6% avec une concordance de 97%.

Selon une étude chinoise [78] publiée en mai 2019 comparative des automates à propos un total de 333 échantillons de sang afin d'évaluer l'exactitude et la précision de différents méthodes de comptage des plaquettes : LH780 (impédance), BC-6000 Plus (optique (O) et impédance (I)), Sysmex XN-9000 (optique (O), impédance (I), fluorescence (F)). (Tableau L)

Le XT-4000i permet la numération optique fluorescente de plaquettes ainsi que la mesure de l'impédance plaquettaire conventionnelle [1].

**Tableau L : Sensibilité et la spécificité des automates à l'alarme « thrombopénie » selon la méthode de comptage.**

Automates	Pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Coulter LH780 [78]	Chine	2019	97,6	98,8
Mindray BC-6000 plus-O [78]	Chine	2019	94	100
Mindray BC-6000 plus-I [78]	Chine	2019	96,4	98,8
Sysmex XN-9000-O [78]	Chine	2019	99,4	98,2
Sysmex XN-9000-I [78]	Chine	2019	96,4	98,2
Sysmex XN-9000-F [78]	Chine	2019	100	99,4
Notre étude : Sysmex XT- 4000i	Maroc	2020	100	95,7

Tous ces automates ont une meilleure sensibilité et une grande spécificité à la thrombopénie.

Dans le cadre d'une thrombopénie (plaquettes < 150 G/l), observée soit en situation initiale, soit au cours d'un suivi mais avec un résultat hors delta-check, la recherche d'une interférence à l'origine d'un compte faussement diminué des plaquettes est la première étape systématiquement menée (recherche de caillot, d'amas, de fibrine, de macroplaquettes...). Sur la base des courbes publiées par Berend Houwen, le delta-check retenu est de 50 %, avec un calcul se basant sur le résultat antérieur.

En l'absence d'interférence identifiée, l'examen cytomorphologique du frottis sanguin est impérativement réalisé chez l'adulte si la thrombopénie est inférieure à 100 G/l, seuil en dessous duquel la mise en évidence d'anomalies d'intérêt clinique devient plus fréquente. Liberté est bien entendu laissée aux biologistes le désirant d'utiliser un seuil plus « contraignant », compris entre 100 et 150 G/l, ce d'autant qu'il existe d'autres anomalies/cytopénies associées. L'examen se concentrera sur la recherche d'anomalies leucocytaires (cellules anormales malignes ou réactionnelles, signes de dysmyélopoïèse), érythrocytaires (schizocytes, parasites intra-érythrocytaires...), et plaquettaires. Chez l'enfant de moins de 15 ans, la possibilité d'une anomalie constitutionnelle des plaquettes fait préférer le seuil de 150 G/l pour décider de l'examen microscopique [57].

### **3.2. Alarme « agrégats plaquettaires »**

L'alarme « agrégats plaquettaires » a été déclenchée dans 12 échantillons, cette alarme était marquée par l'absence des vrais positifs, avec un cas de faux négatif. Les vrais négatifs sont de nombre de 87 cas, nous avons constaté que notre automate n'est pas sensible aux agrégats plaquettaires avec une VPP égale à 0%, la spécificité était de 88%. Ceci peut être expliqué probablement par le faible échantillonnage de notre série.

## Hémogramme : Etude de la fiabilité des alarmes données par l'automate

---

L'étude algérienne au centre hospitalo-universitaire d'Oran [7], l'alarme « agrégats plaquettaires » présente une sensibilité modeste de 66 %, une grande spécificité de 100%, la VPN était de 847% et la VPP était de 100%.

Une étude comparative en Allemagne [66] réalisée par M. Bruegel sur 5 automates (Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, et Sysmex XN-2000) à propos 349 cas (tableau LI).

**Tableau LI : Performance analytique d'alarme agrégats plaquettaires de 5 automates [66].**

Automates	Sensibilité %	Spécificité %	Vrai positive	Faux positive
Sapphire	57	98	4	8
DxH800	86	98	6	7
Advia 2120i	57	98	4	6
XE-5000	57	98	4	8
XN-2000	57	99	4	4

Les automates de cette série ont une excellente spécificité par rapport à la nôtre, L'automate DxH800 rapporte la meilleure sensibilité de 86%.

La performance analytique de sysmex XN-9000 [70] sur 275 échantillons une sensibilité de 53% et une spécificité de 71% les faux négatifs étaient de nombre 8, les faux positifs étaient de 13.

**Tableau LII : Sensibilité et spécificité des alarmes « agrégats plaquettaires »  
des différents automates.**

Automates	Ville /pays	Année	Sensibilité %	Spécificité %
Beckman Coulter HmXTM (Algérie) [7]	Oran/algérie	2013	66	100
Abbott Cell-Dyn Sapphire [66]	Munich/Allemagne	2014	57	98
Beckman Coulter DxH 800 [66]	Munich/Allemagne	2014	86	98
Siemens Advia 2120i [66]	Munich/Allemagne	2014	57	98
SysmexXE-5000 [66]	Munich/Allemagne	2014	57	98
SysmexXN-2000 [66]	Munich/Allemagne	2014	57	99
Sysmex XN-9000 [70]	Johannesburg /Afrique du sud	2018	53	71
Notre série : Sysmex XN- 4000i	Marrakech/maroc	2020	0	88

La comparaison globale de ces différents automates montre que Beckman Coulter HmXTM (série d'Algérie) possède la meilleure sensibilité et une importante spécificité et que notre automate n'était jamais sensible aux agrégats plaquettaires.

Les deux alarmes thrombopénie et agrégats plaquettaires étaient déclenchées ensemble dans 6% des cas de notre série, nous avons noté une discordance entre ces 2 alarmes sur tous les échantillons, notre automate n'arrive pas à distinguer entre les fausses thrombopénies par présence des agrégats et les vraies thrombopénies, devant cette faible fiabilité de cet alarme, l'examen microscopique reste indispensable.

Les automates d'hématologie sont des compteurs de particules qui ne comptent que les particules libres (globules blancs, globules rouges et plaquettes). Pour des raisons diverses si les éléments figures du sang se disposent en agrégats, les particules libres circulantes diminuent et l'appareil va donner systématiquement une fausse détermination du taux réel de ces particules [30].

Les pseudothrombopénies se divisent en deux grands groupes: les pseudothrombopénies EDTA dépendantes et les pseudothrombopénies EDTA indépendantes.

La fausse diminution en comptage automatique des plaquettes normalement libres et détachées les unes des autres en présence d'anticoagulant (EDTA) est le résultat d'un regroupement irréversible des plaquettes entre elles (agrégats). La pseudothrombopénie à l'EDTA est un phénomène in vitro survenant dans le tube de prélèvement. Sa fréquence est estimée à 0,1%. Le mécanisme de pseudothrombopénie à l'EDTA peut être de type immunologique (l'EDTA à basse température altère la conformation des glycoprotéines plaquettaires et du récepteur Fc des globules blancs par chélation d'ions calcium), ou d'une disposition particulière et insolite autour d'un globule blanc. Ce phénomène particulier est appelé satellitisme [79].

Pour les pseudothrombopénies de nature autoimmune, le mécanisme est aussi immunologique, mais non imputable à l'EDTA.

La formation d'agrégats plaquettaires est sous la responsabilité d'un auto-anticorps de type agglutinine froide qui apparaît dans les maladies auto-immunes.

Les pseudothrombopénies de nature physique dues aux macrothrombocytes par mécanisme physique, il est question d'anomalies de détection des plaquettes du fait de leur taille ou de leur volume. Les comptages par impédancemétrie ignorent les méga- ou macrothrombocytes. En revanche, les comptages par méthode optique intègrent mieux les grosses plaquettes [79].

En cas de suspicion d'amas plaquettaires quel que soit le résultat de la numération plaquettaire rendue par l'analyseur, l'opérateur doit en situation initiale contrôler l'absence de coagulum dans l'échantillon puis rechercher des agrégats plaquettaires, soit par examen du frottis sanguin coloré, soit par examen au microscope en contraste de phase d'une goutte de sang à l'état frais entre lame et lamelle [57].

En cas de présence d'amas plaquettaires, le résultat de la numération plaquettaire est remplacé sur le compte rendu par le terme « amas » ou « agglutinats ». Si, pour indication au médecin clinicien, le biologiste souhaite délivrer le résultat par défaut rendu par l'automate, il doit le rendre sous forme d'un commentaire, afin que le résultat mentionné ne soit pas pris à tort comme un résultat exact. La conduite à tenir sera la même en cas de répétition de l'alarme sur les prélèvements ultérieurs. En absence d'amas plaquettaires ou autre interférence diminuant artificiellement le nombre des plaquettes, le résultat de la numération plaquettaire peut être rendu et la vérification réalisée doit être tracée. Si l'alarme se répète lors de l'analyse des échantillons suivants, la recherche d'amas peut ne pas être réalisée de nouveau et le résultat des plaquettes peut être rendu [57].



# *Recommandations*



Chaque laboratoire doit avoir conscience de la nécessité de connaître les performances des automates qu'il possède et d'étudier la fiabilité des différentes alarmes. Cela leur permettra de participer activement à la prise en charge des hémopathies en orientant correctement les médecins dans leurs choix des autres explorations à prescrire et des décisions thérapeutiques à prendre.

Il est nécessaire d'évaluer les performances analytiques de ces alarmes afin de maîtriser leur utilisation au quotidien et permettre aux sociétés de développer des automates avec un taux minimum de revue des lames avec des performances de détection encore affinée et des capacités d'expertises étendues.



# *CONCLUSION*



L'hémogramme est devenu de nos jours un test qui fournit un très grand nombre de renseignements. Dans ce cadre, les fournisseurs d'automates continuent leurs avancées en introduisant de nouvelles technologies de mesure et en développant de nouveaux paramètres.

La technique automatisée de l'hémogramme est plus avantageuse, elle permet d'assurer une meilleure reproductibilité, avec une plus grande précision des résultats et une bonne rapidité d'exécution. La réalisation de frottis reste un moyen sûr de confirmation de nombreuses pathologies hématologiques.

Sur la base des résultats de notre étude prospective et à la lumière de l'analyse bibliographique menée, nous concluons que la fidélité de notre automate est satisfaisante, le déclenchement des alarmes en fonction des anomalies a permis d'individualiser des alarmes plus fiables par rapport aux autres, donc le maintien d'un certain niveau de vigilance est recommandé pour reconstrôler sur frottis sanguin les alarmes étudiées.



# *ANNEXE*



*Fiche d'exploitation*

---

**Identité :**

Nom : ..... Prénom : ..... Âge : .....

Sexe : Femme : ..... Homme : .....

**ATCD :** .....

**Service d'origine :** .....

**Indication :** .....

**Les paramètres de NFS :**

GB:.....10 <sup>3</sup> /ul	TCMH: ..... pg
NEUT:.....10 <sup>3</sup> /ul	CCMH :.....g/dl
EO:.....10 <sup>3</sup> /ul	IDR-SD:.....fL
BASO:.....10 <sup>3</sup> /ul	IDR-CV:.....%
LYMPH:.....10 <sup>3</sup> /ul	PLQ: .....10 <sup>3</sup> /ul
MONO:.....10 <sup>3</sup> /ul	IDP:..... fl
GR: .....10 <sup>6</sup> /ul	VPM.....fl
HBG : .....g/dl	PRGC.....%
HCT: ..... %	PCT.....% nn
VGM:..... FL	

**LES ALARMES :**

- GB messages : .....

- GR/RET messages : .....

- PLT messages : .....

FROTTIS SANGUIN

Le résultat : concordant

non concordant

Compte

rendu : .....

.....

.....



# *RESUMES*



## Résumé

L'hémogramme automatisé est le premier examen biologique qui analyse le nombre, la proportion, la morphologie et les variations des éléments figurés du sang. Il est utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies tant bénignes que malignes. La numération de la formule sanguine est réalisée sur divers automates utilisant nombreuses techniques d'analyses simultanées. Nombreuses alarmes ont été mises en place en parallèle pour signaler plus précisément certaines anomalies de mesure ou d'analyse.

Notre étude était prospective, descriptive et analytique au sein du Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, étalée sur une période d'un an. L'objectif de ce travail était d'évaluer la performance analytique des alarmes signalées par notre automate Sysmex XT-4000i sur 100 hémogrammes.

En ce qui concerne les données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques ; le nom et prénom des patients ont été mentionnés sur toutes les fiches reçues. Aucune erreur d'identification n'a été objectivée. Le sexe de chaque patient prélevé a été marqué sur sa fiche de prescription correspondante avec une prédominance masculine et un sexe ratio à 1,43. L'âge des patients variait entre 12 mois et 83 ans avec un âge moyen de 48 ans, les indications des hémogrammes demandés étaient non mentionnées dans 53 % des cas.

L'étude de la fiabilité des alarmes a objectivé une alarme « microcytose » très performante avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 98,7%. Elle était source d'un seul faux positif. La VPN était de 100 % et la VPP était de 94,7% avec une concordance de 99%.

Nous avons obtenu pour alarme « Leucocytose » une spécificité de 87,6% et VPP de 75%. La sensibilité et VPN étaient de 100%. Cette alarme était discordante dans 9% des cas.

La sensibilité et VPN d'alarme « lymphocytose » étaient de 100%, la spécificité était de 98,7% et VPP était de 95% avec une discordance de 1%.

L'alarme « Lymphocytes atypiques » a présenté deux faux positifs, La sensibilité et la VPN étaient de 100%, la spécificité était de 95,9% et la VPP était de 33.3% avec une concordance de 98%.

Concernant l'alarme « granulocytes immatures », la spécificité était de 80,2% en relation avec 19 faux positifs, la VPP et la sensibilité était respectivement de 13,6 %, 75% avec une discordance de 20 %.

Pour l'alarme « blastes », la spécificité était de 94,8 % et la VPP de 28,5% étaient en relation avec les 5 faux positifs retrouvés. La sensibilité et la VPN étaient de 100% (absence des faux négatifs).

L'alarme « érythroblastes » était signalé dans 14 cas, cette alarme était responsable de 10 faux positifs avec une spécificité de 89,6% et une VPP de 28,6%. La sensibilité était de 100% et la VPN était de 100%.

L'alarme « Thrombopénie » a rapporté une sensibilité de 100% et une VPN de 100%, elle n'était pas source des faux négatifs. La spécificité était aussi importante de 95,7% avec un nombre faible des faux positifs et VPP était de 90,6%.

L'alarme « agrégats plaquettaires » était marquée par l'absence des vrais positifs, avec un cas de faux négatif .Les vrais négatifs étaient en nombre de 87 cas. Nous avons constaté que notre automate n'était pas sensible aux agrégats plaquettaires avec une VPP égale à 0%, et la spécificité de 88%.

Sur la base des résultats de notre étude, nous concluons que la fidélité de notre automate est satisfaisante, le déclenchement des alarmes a permis distinguer des alarmes de performances différentes. Donc Chaque laboratoire doit avoir conscience de la nécessité d'évaluer la fiabilité des automates qu'il possède et d'étudier les différentes alarmes.

## Abstract

The automated hemogram is the first biological examination that analyzes the number, proportion, morphology and variations in the figurative elements of the blood, used to screen, explore and monitor most blood diseases, both benign and malignant, the blood count is performed on various automatons using many simultaneous analysis techniques. Numerous flags have been set up in parallel to indicate more precisely certain measurement or analysis anomalies.

Our study is prospective, descriptive and analytical within the Haematology Laboratory of the Avicenna Military Hospital in Marrakech. Spread over a period of one year. The objective of this work is to evaluate the analytical performance of the flags reported by our Sysmex XT-4000i PLC over 100 blood counts.

With regard to epidemiological, clinical and therapeutic data; patients' first and last names were mentioned on all the forms received. No misidentification was objectified; the sex of each patient sampled was marked on the corresponding prescription form with a male predominance and a sex ratio of 1.43. Patients ranged in age from 12 months to 83 years with a mean age of 48 years, with 53% of patients not mentioning the indications for the requested blood counts.

The study of the reliability of the alarms objectified a very high performance "microcytosis" flag with a sensitivity of 100% and specificity of 98.7%, it was the source of only one false positive. The NPV was 100% and the PPV was 94.7% with 99% agreement.

We obtained for flag "Leukocytosis" a specificity of 87.6% and PPV of 75%. Sensitivity and NPV were 100%, this alarm was discordant in 9% of cases.

The sensitivity and NPV of "lymphocytosis" alarm was 100%, the specificity was 98.7% and VPP was 95% with 1% discordance.

The "Atypical Lymphocytes" flag had two false positives, sensitivity and NPV were 100%, specificity was 95.9%, and PPV was 33.3% with 98% agreement.

For the "immature granulocyte" flag, specificity was 80.2% in relation to 19 false positives, PPV and sensitivity was 13.6%, 75% with a discrepancy of 20% respectively.

For the "blast" flag alarm, the specificity was 94.8% and the PPV of 28.5% were related to the 5 false positives found. Sensitivity and NPV were 100% (the absence of false negatives), "erythroblast" alarm was reported in 14 cases, this alarm was responsible for 10 false positives with a specificity of 89.6% and a PPV of 28.6%, sensitivity was 100% and NPV was 100%.

"Thrombocytopenia" flag reported 100% sensitivity and 100% NPV, it was not a source of false negatives VPP 90,6%. Specificity was also high at 95.7% with a low number of false positives.

"Platelet aggregates" flag alarm was marked by the absence of true positives, with one case of false negative. 87 cases were true negatives, we found that our automaton is not sensitive to platelet aggregates with a PPV equal to 0%, and the specificity was 88%.

## ملخص

يعتبر تعداد الدم الأوتوماتيكي الكامل أول فحص بيولوجي يحلل عدد العناصر المكوّنة في الدم ونسبتها وتغيراتها. يستخدم لتشخيص و رصد معظم أمراض الدم، سواء الحميدة والخبيثة منها . يتم إجراء عملية عد مكونات الدم على طريق العديد من الأجهزة الآلية باستخدام مجموعة من تقنيات التحليل.

دراستنا استباقية ، وصفية وتحليلية بمختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري مراكش، امتدت لسنة واحدة. الهدف من هذا العمل هو تقييم الأداء التحليلي لإنذارات التي أبلغنا عنها الآلي Sysmex XT-4000i بتحليل 100 تعداد دم كامل.

فيما يتعلق بالبيانات الوبائية و السريرية والعلاجية ؛ تم ذكر اسم و نسب المرضى في جميع الوصفات الطبية التي تم تلقيها. لم نجد أي خطأ في رصد هوية المرضى .

سجل جنس المرضى على كل الوصفات الطبية، مع تفوق لنسبة الذكور ونسبة الجنس تساوي 1.43. تراوحت أعمار المرضى بين 12 شهراً و 83 سنة بمتوسط 48 سنة، ولم يتم ذكر أسباب تعداد الدم الكامل المطلوب في 53% من الحالات.

قد أوضحت دراسة الإنذار " صغر الكريات الحمر " انه فعالا للغاية بحساسية 100 % و نوعية 98.7% ، وكان مصدر إيجابية كاذبة واحدة. القيمة التنبؤية الايجابية ناهزت 100 % و القيمة التنبؤية السلبية تبلغ 94.7 % مع توافق يصل إلى 99%.

إنذار " كثرة الكريات البيض " حصلنا على نوعية بلغت 87.6 % و قيمة تنبؤية ايجابية تعادل 75 % . في حين الحساسية و القيمة التنبؤية السلبية بلغا 100% ، وكان هذا الإنذار غير متوافق في 9 % من الحالات.

حساسية الإنذار " كثرة اللمفاوية" و القيمة التنبؤية سلبية بلغا 100 % ، معدل النوعية ناهز 98.7 % و القيمة التنبؤية الايجابية ساوت 95 % مع وجود تباين بنسبة 1 %.

إنذار " الخلايا اللمفاوية غير النمطية " خلف إيجابيتين كاذبتين ، في حين الحساسية والقيمة التنبؤية السلبية بلغا 100% ، أما النوعية عادلت 95.9% . والقيمة التنبؤية الإيجابية ساوت 33.3% بتوافق يصل إلى 98%.

فيما يتعلق بإنذار " الخلايا الحبيبية غير الناضج" ، النوعية بلغت 80.2 % بفعل 19 إيجابية كاذبة في حين القيمة التنبؤية الإيجابية والحساسية بلغا على التوالي 13.6% ، 75 % مع وجود تباين وصل 20 % . في حين القيمة التنبؤية السلبية عادلت 98.7 %.

بالنسبة لإنذار " خلايا الدم البيضاء غير الناضجة" ، النوعية بلغت 94.8% والقيمة التنبؤية الإيجابية بلغت 28.5% بسبب الإيجابيات الكاذبة الخمسة التي تم العثور عليها. الحساسية و القيمة التنبؤية السلبية بلغتا 100 % (غياب السلبيات الكاذبة).

الإنذار " قلة الصفائح " ملك حساسية وقيمة تنبؤية سلبية عادلتا 100% ولم يكن مصدر للسلبيات الكاذبة. كما ملك نوعية مهمة بلغت 95.7% مع وجود عدد قليل من الإيجابيات الخاطئة و قيمة تنبؤية ايجابية عادلت 90.6%.

تميز " تكدس الصفيحات " بعدم وجود إيجابيات حقيقية ، مع وجود حالة سلبية كاذبة ، السلبيات الحقيقية هي 87 حالة، وجدنا أن نظامنا الآلي غير حساس لتكدس الصفيحات الدموية بنسبة 0 %، أما النوعية بلغت 88 %.

بناءً على نتائج دراستنا، نخلص إلى أن موثوقية الآلي المستعمل مرضية، مع وجود إنذارات ذات موثوقية متفاوتة لهذا وجب على كل مختبر دراسة الآلي و مختلف الإنذارات المقدمة



# *BIBLIOGRAPHIE*



1. « XT-4000i MC Analyseur Hématologique Automatisé ». Sysmex America, 2010.
2. **Daunizeau A.**  
« Automatisation et gain de productivité au laboratoire »,  
*p. 4, 2006.*
3. **Ardouni S.**  
« HEMOGRAMME: AVANCEES ACTUELLES »,  
thèse, UNIVERSITE MOHAMMED V – SOUISSI FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE,  
*casablanca, 2013.*
4. **Imbert M.**  
« Difficultés de détection et d'interprétation de cellules anormales circulantes »,  
*oct. 2008.*
5. **Imbert M et Jouault H.**  
« Difficultés De Validation D'un Hémogramme Sur Automate: Indications Du Recours À  
Des Techniques Manuelles »,  
*Rev. Fr. Lab., vol. 2005, no 371, p. 25-32, mars 2005.*
6. **Nquila F.**  
« Automatisation en hématologie cellulaire »  
faculté de medecine et pharmacie de Rabat, rabat, 2016.
7. **Zmouli N, Moulasserdoun K et Seghier F.**  
« Évaluation de l'analyseur d'hématologie Beckman Coulter® HmXTM dans le centre  
hospitalo-universitaire d'Oran »  
*Ann. Pharm. Fr., vol. 71, no 6, p. 390-400, nov. 2013*
8. **Imbert M, El Houry M.**  
« Coloration de May-Grünwald-Giemsa. »  
*EMC – Biol médicale. 2006;1(4):1-6.*

9. **DOLISI G.**  
« Frottis sanguin réalisation », 19-avr-2017.  
*Disponible sur: [https://www.bio-top.net/Microbio/TP/Frottis\\_realisation.htm](https://www.bio-top.net/Microbio/TP/Frottis_realisation.htm).*
  
10. **AMOU C.**  
« Confession, coloration et examen des frottis » Université d'Abomey- Calavi au Bénin, Memoire Online, 2002.  
Disponible sur: [https://www.memoireonline.com/10/13/7583/m\\_Confession-coloration-et-examen-des-frottis2.html#\\_Toc354553227](https://www.memoireonline.com/10/13/7583/m_Confession-coloration-et-examen-des-frottis2.html#_Toc354553227).
  
11. **Steiger A. Schreiber K., Goede J.**  
« Morphologie hématologique », Clinique d'Hématologie, Hôpital Universitaire Zürich, 2011.
  
12. **Arnaud D. C.**  
« Evaluation des procédures de dépistage », p. 11.
  
13. **Yagoubi S.**  
« Le tissu sanguin ».  
*Université ammar telidji laghouat Faculté de médecine.*
  
14. **Norbert I et Maynadié M.**  
« Hématologie »  
*juin-2018.*
  
15. **Rahali f.**  
« Guide d'hématologie clinique à l'usage de l'étudiant en médecine en stage *hospitalier* », *FMPM, marrakech, 2018.*
  
16. **Lévy J. P, Varet B, Clauvel J. P, Lefrère F, Bezeaud A, Guillin M. C,**  
Abrégés hématologie et transfusion.  
Édition Masson, 2001.

17. **Anonyme**  
« Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers ».  
*Disponible sur: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire>.*
18. **Rahali fz,**  
« Guide d'hématologie clinique à l'usage de l'étudiant en médecine en stage hospitalier ». *févr-2018.*
19. **« Origines du mot »**  
L'Automatisme d'Alfred-Georges Regner.  
*Disponible sur: <http://automatisme-alfred-georges-regner.fr/lautomatisme/origines-du-mot/>.*
20. **Moquin JP.**  
« Comment maximiser les données de la formule sanguine».  
Le Médecin du Québec[en ligne]. 2003□; 38(10)□: 42-48.  
Disponible à l'URL:  
*<http://lemedecinduquebec.org/Media/78445/042048MOQUIN1003.pdf> .*
21. **Simson E.**  
« Historical Perspective on Cellular Analysis »,  
Laboratory Hematology Practice, K. Kottke-Marchant et B. H. Davis, Éd. Oxford, UK:  
*Wiley-Blackwell, 2012, p. 1-9.*
22. **Branger, Marine,**  
« Démarche qualité en hématologie: application à la maîtrise du processus analytique de la numération formule sanguine »,  
*Université de Nantes. Unité de Formation et de Recherche de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, France, 2014.*
23. **Anonyme,**  
« Maintenance appareils d'hématologie »,  
janv-2018. [En ligne]. Disponible sur: [https://nanopdf.com/download/maintenance-appareils-dhematologie\\_pdf](https://nanopdf.com/download/maintenance-appareils-dhematologie_pdf). [Consulté le: 09-févr-2020].

24. **« Hémogramme automatisé »**  
Disponible sur: <https://docplayer.fr/17321104-Hemogramme-automatise.html>.  
[Consulté le: 09-févr-2020].
25. **« La cytométrie de flux III.1.Définition »**  
[En ligne]. Disponible sur: <https://docplayer.fr/15606346-lji-la-cytometrie-de-flux-iii-1-definition.html>.
26. **Steiger A.**  
« L'analyse automatisée de l'hémogramme de la lignée rouge »  
*Morphologie hématologique. Point de vue hématologie – MQZH 2010.*
27. **Münster M.**  
« Sysmex Educational Enhancement & Development »  
*Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex. juin-2011.*
28. **Sassi M, Dibej W, Abdi B, Abderrazak F, Hassine M, et Babba H.**  
« Performances diagnostiques des anomalies graphiques dans la détection des macroplaquettes et des agrégats plaquettaires »  
*Pathol. Biol., vol. 63, no 6, p. 248-251, déc. 2015.*
29. **Ghaffour A.**  
« Evaluation des explorations hématologiques dans le service de pédiatrie et aux UMCp de l'EHS (mère-enfant) de Tlemcen »  
*Thèse, Université Abou Bekr Belkaïd faculté de Médecine Dr. B. Benzerdjeb – Tlemcen, 2014.*
30. **Dr Véronique**  
« Hémogramme□: Indications et Interprétation ».  
*DEMAS (Laboratoire d'Hématologie).*

31. « Lecture Critique De L'hémogramme : Valeurs Seuils À Reconnaître Comme Probablement Pathologiques Et Principales Variations Non Pathologiques », ANAES Service Réf. Médicales, sept. 1997.
32. **Mustapha Rais,**  
« Évaluation des performances du paramètre de recherche HFLC sur l'identification et la quantification des lymphocytes activés sur automate à numération Sysmex XN-10 à propos de 180 cas au CHU de Rouen », *UNIVERSITE DE ROUEN, 2018.*
33. **C. Ferrero-Vacher et al.**  
« Évaluation du CELL-DYN 4000® Abbott automate d'hématologie » *Rev. Fr. Lab., vol. 2002, no 340, p. 53-64, févr. 2002,*
34. **F. Geneviève et al.**  
« propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) » *Feuill. Biol., p. 10, 2014.*
35. **K.Mikou,**  
« Protocole de validation, Alarmes qualitatives et Critères de revue lame Analyseurs SYSMEX Série XT / Série XS ». *Département Scientifique, megaflex.*
36. **Contassot I.**  
« Hématologie – Cytologie », *p. 67.*
37. **Berthélémy S.**  
« L'hémogramme ou numération-formule sanguine », *Actual. Pharm., vol. 53, no 538, p. 53-55, sept. 2014,*
38. **Zandecki M, Redoulès P.**  
« Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers ». *[En ligne]. Disponible sur: <http://www.hematocell.fr>*

39. **Steiger A.**  
« Blastés »,  
*Hôpital Universitaire Zürich, 2009.*
40. **Münster M.**  
« Rôle du frottis sanguin périphérique en laboratoire d'hématologie moderne »,  
*Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex SEED Hématologie, juill-2014.*
41. **Steiger A.**  
« Évaluation de l'hémogramme rouge »,  
*Hôpital Universitaire Zürich, 2014.*
42. **Valensi F.**  
« Morphologie des cellules sanguines normales »,  
*EMC - Hématologie, vol. 2, no 1, p. 1-13, mars 2005,*
43. **Fenneteau O et Maier-Redelsperger M.**  
« Apport de l'examen du frottis de sang pour le diagnostic de la pathologie constitutionnelle du globule rouge »,  
*Rev. Fr. Lab., vol. 2000, no 324, p. 51-62, juin 2000*
44. **Arock M, ChemlaG, Chemla JP.**  
Autoformation et aide au diagnostic en hématologie avec le logiciel ADH  
*Springer Science & Business Media, 2008.*
45. **« Sang normal □: cytolgie descriptive ».**  
Disponible sur: <http://www.cytologie-sanguine.com/html/sangnormal.php#>.
46. **Steiger A,**  
« Évaluation de l'hémogramme blanc »,  
*Clinique d'Hématologie Hôpital Universitaire Zürich, 2014.*

47. **Cai H.**  
« Diagnostic des pathologies plaquettaire<sup>5</sup>: optimisation de l'exploration des granules denses plaquettaires »,  
*Phdthesis, Université de Lorraine, 2015.*
48. « **Activités de biologie médicale et certification des établissements de santé** »,  
*p. 13, 2014.*
49. **Bologna L., Lind C., Riggs RC.**  
«Reducing major identification errors within a deployed phlebotomy process. »  
*Clin Leadersh Manag Rev, Jan 2002; 16(1): 22-6 .*
50. **D. Bounid et K. Houach**  
« Estimation des valeurs normales de l'hémogramme à Marrakech: étude préliminaire au CHU Med VI de Marrakech »,  
*Pan Afr. Med. J., vol. 30, 2018,*
51. **Ben Amor I, Menif H, A. Ben Hamida, Gdoura I, Rekik H, et Gargouri J.**  
« Hemogram reference values: study of 1000 healthy adults from Sfax »,  
*Arch. Inst. Pasteur Tunis, vol. 89, no 1-4, p. 47-61, 2012.*
52. **F. Trimoreau, P. Perroud, J. Boyer, et N. Gachard,**  
« Constantes pré-analytiques en hémostase-cytologie »,  
*Rev. Fr. Lab., vol. 1999, no 317, p. 71-81, nov. 1999,*
53. **Briggs C, Culp N, Davis B, d'Onofrio G.,Zini G, et Machin S. J.**  
« ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting »,  
*Int. J. Lab. Hematol., vol. 36, no 6, p. 613-627, 2014,*
54. « **Laboratoire guide des analyses** »  
Centre hospitalier de beauvais. Disponible  
*sur:<http://www.chbeauvais.fr/guideanalyse/cytologie.html>. [Consulté le: 16-janv-2020].*

55. « FMPMC-PS – Hématologie – Niveau DCEM3 ».  
[En ligne]. Disponible sur:  
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/hemato/POLY.Chp.12.6.html>. [Consulté le: 16-janv-2020].
56. **Ait Si Ali Z.**  
« Étude prospective □: Relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase au laboratoire d'Hématologie de l'HMA Marrakech »  
*p. 136-72, 2018.*
57. **Geneviève et al F.**  
« Propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) »  
*Feuill. Biol., p. 10, 2014.*
58. **N. Beck,**  
«Diagnostic Hematology. »  
*Springer Science & Business Media, 2008.*
59. **Münster M.**  
« Indices érythrocytaires »  
Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex 3 SEED Hématologie |  
*No 4, 2014.*
60. **Godon A, Genevieve F, Marteau-Tessier A, et Zandecki M.**  
« Automated hematology analysers and spurious counts Part 3. Haemoglobin, red blood cells, cell count and indices, reticulocytes »,  
*Ann. Biol. Clin. (Paris), vol. 70, no 2, p. 155-168, mars 2012,*
61. **Genevi F, Godon A, Marteau-Tessier A, et Zandecki M.**  
« Automated hematology analysers and spurious counts ;Part 2. Leukocyte count and differential »,  
*Ann. Biol. Clin. (Paris), vol. 70, no 2, p. 141-154, mars 2012*
62. **miko K.**  
Scientific Manager, « adding value to health ».  
*megaflex, 05-juill-2018.*

63. **Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, et Godon A,**  
« Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes », *Clin. Lab. Haematol.*, vol. 29, no 1, p. 21-41, févr. 2007
64. **Caron Servan B, Defasque S, Hémar, H. Mossafa C.**  
« Recommandations pour le diagnostic et l'interprétation d'une hyperlymphocytose sanguine », *Laboratoire CERBA, juin-2012.*
65. « **Recommandations du GFHC pour le compte rendu de résultat de l'hémogramme** », *Option/Bio*, vol. 27, no 553-554, p. 17-21, nov. 2016,
66. **Bruegel M, Nagel D, Funk M, Fuhrmann P, Zander J, et Teupser D.**  
« Comparison of five automated hematology analyzers in a university hospital setting: Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DxH 800, Siemens Advia 2120i, Sysmex XE-5000, and Sysmex XN-2000 » *Clin. Chem. Lab. Med. CCLM*, vol. 53, no 7, janv. 2015, doi: 10.1515/cclm-2014-0945.
67. **T. E. S. Maciel, S. R. Comar, et M. P. Beltrame,**  
« Performance evaluation of the Sysmex® XE-2100D automated hematology analyzer », *J. Bras. Patol. E Med. Lab.*, vol. 50, no 1, p. 26-35, févr. 2014,
68. **I. Pérez, M. E. Redín, A. Vives, A. Garrido, E. Urrechaga, et M. Lacasta,**  
« Local verification between the hematological analyzers Sysmex XN-series and XE-5000 », *Int. J. Lab. Hematol.*, vol. 38, no 3, p. 256-264, juin 2016,
69. **S. Genc, E. Dervisoglu, S. Erdem, O. Arslan, M. Aktan, et B. Omer,**  
« Comparison of performance and abnormal cell flagging of two automated hematology analyzers: Sysmex XN 3000 and Beckman Coulter DxH 800 » *Int. J. Lab. Hematol.*, vol. 39, no 6, p. 633-640, déc. 2017
70. **E. Schapkaitz et S. Raburabu,**  
« Performance evaluation of the new measurement channels on the automated Sysmex XN-9000 hematology analyzer », *Clin. Biochem.*, vol. 53, p. 132-138, mars 2018,

71. **L. Meintker, J. Ringwald, M. Rauh, et S. W. Krause,**  
« Comparison of Automated Differential Blood Cell Counts From Abbott Sapphire, Siemens Advia 120, Beckman Coulter DxH 800, and Sysmex XE-2100 in Normal and Pathologic Samples »,  
*Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 139, no 5, p. 641-650, mai 2013,
72. **E. Schapkaitz et S. Raburabu,**  
« Performance evaluation of the new measurement channels on the automated Sysmex XN-9000 hematology analyzer »  
*Clin. Biochem.*, vol. 53, p. 132-138, mars 2018,
73. **Dr.miko**  
« Analyse et quantification précise de la myélémie sur automates d'hématologie Sysmex ».  
*Département Scientifique Megaflex, Maroc.*
74. **F. Aidoudi et al.**  
« Performance analysis of the «Blast» flag on ADVIA® 2120/2120i – Results of a multicenter study », *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 77, no 2, p. 174-178, avr. 2019,
75. **Steiger A.**  
« La déviation à gauche », Clinique d'Hématologie Hôpital universitaire Zürich, 2008.
76. **Geneviève et al.**  
«Propositions du Groupe Francophone d'Hématologie C.pdf ». 2014.
77. **Van der Beken,**  
« Performance evaluation of the prototype Abbott Alinity hq hematology analyzer – International Journal of Laboratory Hematology – Wiley Online Library », 21-mai-2019.. Disponible sur:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijlh.13020>. [Consulté le: 31-janv-2020].

78. **Y. Sun et al.,**  
« Compare the accuracy and precision of Coulter LH780, Mindray BC-6000 Plus, and Sysmex XN-9000 with the international reference flow cytometric method in platelet counting », *PLOS ONE*, vol. 14, no 5, p. e0217298, mai 2019,
79. **D. Nakul-Aquarone, A. El Yakine, B. Starck, et J. Bayle,**  
« Les pièges de la numération automatique des plaquettes »,  
*Rev. Fr. Lab.*, vol. 2002, no 34725, p. n. 2002, doi: 10.1016/S0338 -  
9898(02)80351-1.

## أُقْسِمُ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

أَنْ أُرَاقِبَ اللَّهَ فِي مِهْنَتِي.

وَأَنْ أَصُونَ حَيَاةَ الْإِنْسَانِ فِي كَأَفِّهِ أَطْوَارَهَا فِي كُلِّ الظُّرُوفِ  
وَالْأَحْوَالِ بِإِذْنِهِ وَسَعْيِي فِي اسْتِنْقَازِهَا مِنَ الْهَلَاكِ وَالْمَرَضِ

وَالْأَلَمِ وَالْقَلْقِ.

وَأَنْ أَحْفَظَ لِلنَّاسِ كَرَامَتَهُمْ، وَأَسْتُرَ عَوْرَتَهُمْ،  
وَأَكْتُمُ سِرَّهُمْ.

وَأَنْ أَكُونَ عَلَى الدَّوَامِ مِنْ وَسَائِلِ رَحْمَةِ اللَّهِ،  
بِإِذْنِهِ رِعَايَتِي الطَّبِيبَةَ لِلْقَرِيبِ وَالْبَعِيدِ، لِلصَّالِحِ  
وَالطَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وَأَنْ أَثَابِرَ عَلَى طَلَبِ الْعِلْمِ، أَسْحَرَهُ لِنَفْعِ  
الْإِنْسَانِ .. لَا لِأَذَاهِ.



وَأَنْ أُوقِرَ مَنْ عَلَّمَنِي، وَأَعَلَّمَ مَنْ يَصْنَعُنِي، وَأَكُونُ أَخْتًا لِكُلِّ زَمِيلٍ فِي الْمِهْنَةِ  
الطَّبِيبَةِ

مُتَعَاوِنِينَ عَلَى الْبِرِّ وَالتَّقْوَى.

وَأَنْ تَكُونَ حَيَاتِي مِصْدَاقَ إِيمَانِي فِي سِرِّي وَعَلَانِيَتِي، نَقِيَّةً مِمَّا يُشِينُهَا تَجَاهَ

اللَّهِ وَرَسُولِهِ وَالْمُؤْمِنِينَ.

وَاللَّهُ عَلَى مَا أَقُولُ شَهِيدٌ.

أطروحة رقم 049

سنة 2020

## تعداد الدم الكامل: دراسة موثوقية الإنذارات المقدمة من طرف الالي

### الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2020/03/11

من طرف

الآنسة **إشراق هرموشي**

المزداة في 18 أبريل 1993 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

### الكلمات الأساسية :

تعداد الدم الكامل الاتوماتيكي - آلة عد الدم الكامل - إنذارات - أداء - حساسية - نوعية

### الجنة

الرئيسة

**ص. شلاق**

السيدة

أستاذة في علم الكيمياء الحيوية

المشرف

**م. شكور**

السيد

أستاذ في طب أمراض الدم

**م. زياني**

السيد

أستاذ في الطب الباطني

**م. ايت عمرو**

السيد

أستاذ في طب أمراض الدم

**ا. المزواري**

السيد

أستاذ مبرز في علم الطفيليات و الفطريات

الحكام