

Dédicace

Au nom du DIEU clément et miséricordieux et le salut de Dieu soient sur son prophète MOHAMED que la paix et bénédiction de Dieu soient sur Lui.

A mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, pour m'avoir encouragé, soutenu et m'ont fait confiance même durant certains moments pénibles. Qu'ils trouvent ici le témoignage de tout l'amour que je leur porte et toutes mes reconnaissances.

A mon mari pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions et pour ses directives, conseils et encouragement.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A mon cher frère

A mes chères sœurs

A mes chères amies

Je dédie ce projet de fin d'études en espérant la réussite et le succès.

Remerciements

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à toute personne universitaire, professionnelle ou autre, ayant contribué à la réussite de ce modeste projet de fin d'études.

Je tiens à exprimer ma gratitude et présenter mes chaleureux remerciements à:

Mon professeur et encadrant de stage Mr. HALOTI Said, professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Fès, pour son encadrement, ses précieux conseils et sa disponibilité durant toute la période du stage.

Je vous prie professeur d'accepter l'expression de ma haute gratitude.

Dr. BAROUDI Amina, Médecin chef du laboratoire de l'HIK, de m'avoir accordé ce stage qui m'a permis chaque jour d'apprendre davantage, d'élargir mes connaissances et d'acquérir ainsi une expérience qui pourrait m'être utile dans ma vie professionnelle. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

Je remercie également Mme El Abida Kaouakib, mon professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et membre du jury, d'avoir accepté de partager avec nous la phase ultime de ce travail.

Enfin je tiens également à remercier chaleureusement toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Abréviations

BPO : Bilan Préopératoire

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

CQI : Contrôle de Qualité Interne

EDTA : Acide Ethylène Diamine Ttétraacétique
 fl : femto litre
 GB : Globule Blanc
 GR : Globule Rouge
 Hb : Hémoglobine
 HCT : Hématocrite
 IRC : Insuffisance Rénale Chronique
 NFS : Numération Formelle Sanguine
 PLQ : Plaquette
 RC : Renseignement Clinique
 RAA : Rhumatisme Articulaire Aigue
 SLS : Sodium Lauryl Sulfate
 TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
 VGM : Volume Globulaire Moyenne
 VST : Volume Sanguin Total

Sommaire

Abréviations :.....	3
Introduction :	5
Présentation de l’Hôpital Régional Ibn Al Khatib :.....	6
A. Partie théorique :.....	10
I. Définitions	11
II. Processus des analyses médicales	13
III. Numération formule sanguine (NFS)	14
1. Numération sanguine	14
2. Formule sanguine ou différenciation leucocytaire.....	18
IV. Contrôle de qualité interne (CQI)	21
1. Objectifs.....	21
2. Approche du CQI.....	21
B. Partie pratique	24
I. Recueil des données	25
1. Collecte des échantillons de la série.....	25

2. Etude de la conformité des prélèvements.....	25
3. Analyse des échantillons des patients.....	26
4. Contrôle de qualité interne.....	28
II. Traitement des données et interprétation.....	30
1. Répartition selon la provenance.....	30
2. Répartition selon la mention de l'identité du patient.....	32
3. Répartition selon la mention des RC.....	34
4. Répartition selon la conformité des prélèvements.....	35
5. Données relatifs aux résultats de la NFS des patients.....	35
6. données relatives au CQI.....	36
C. DISCUSSION.....	38
Conclusion :.....	41
Annexe :.....	42
Bibliographie et Webographie :.....	43

Introduction

Actuellement, l'analyse médicale est un outil incontournable de prévention, diagnostique, pronostique, suivi et dépistage de différentes maladies humaines.

Avec les avancées scientifiques et les progrès technologique en matière d'analyses médicales, les techniques manuelles sont largement devancées par l'automatisation qui permet un meilleur rendement par le traitement de grandes séries d'analyses pendant un court temps, et surtout des résultats plus fiables visant à apporter des informations utiles au diagnostic, à la prévention ou au traitement des maladies ou à l'évaluation de l'état de santé.

Dans ce sens, des outils tels que le contrôle de qualité interne (CQI) sont destinés aux biologistes pour évaluer et choisir la qualité d'une technique soumise à leur appréciation quand ils se trouvent devant plus d'une technique pour la détermination quantitative d'un paramètre donné.

L'objectif de ce travail est de sensibiliser l'opérateur sur l'intérêt de l'application du CQI dans la validation technique d'une série d'analyse de sang destiné à la détermination de la NFS.

- Le département de médecine (DM) :

- le service d'hémodialyse,
- le service de cardiologie,
- le service pneumo-phtisiologie,
- le service médecine Interne,
- le service médecine générale,
- le service d'endocrinologie.
- le service des urgences

- Le département de chirurgie (DC) :

- le service de chirurgie,
- le service de réanimation chirurgicale,
- le bloc opératoire

B- Service du Laboratoire du CHR Ibn Al Khatib:

Le laboratoire d'analyses médicales fait partie des services d'appui de HIK. L'architecture et l'organisation fonctionnelle avec leurs caractéristiques seront détaillées dans ce chapitre.

1- Les locaux:

Le laboratoire dispose de différents postes de travail qui sont répartis dans les locaux suivants :

- Salle d'hématologie et d'immuno-hormonologie ;
- Salle de biochimie, de sérologie et d'hémostase ;
- Salle de bactériologie et de parasitologie ;
- Salle de bacilloscopie ;
- Locaux destinés à la salle de prélèvement pour les patients « externes » ;
- Sites d'accueil, d'orientation et de rendu des résultats ;
- Lieu de stockage des réactifs, fongibles et matériels ;
- Laverie.

2- Le personnel

Les différentes activités sont assurées par une équipe du laboratoire composée de 19 personnels en plus de deux personnels d'appui, une femme de nettoyage, et d'un agent de sécurité. Sur le tableau ci-dessous figure la liste du personnel:

Tableau (1) : L'effectif du personnel dans le laboratoire de l'HIK

Médecin biologiste (M. chef)	01
Technicien de laboratoire (I. Chef)	01
Assistante médicale	02
Ingénieur	02
Technicien de laboratoire	05
Infirmier	06
Personnel d'appui	02

3- Le matériel et équipement

Le laboratoire dispose d'un certain nombre d'automate et d'appareil permettant de faciliter la tâche du technicien, de diversifier la gamme des analyses et d'en assurer plus d'exactitude et de précision. Nous citons essentiellement les automates d'hématologie (02), d'immuno-hormonologie (01), de Biochimie (02), les Micro-centrifugeuses, les microscopes (04).

4- Les horaires de travail

Le laboratoire de biologie médicale est ouvert au publique et aux services hospitaliers de 8 h 30 min jusqu'à 16 h 30 min. une garde est assurée pour les prélèvements d'urgence.

5- Le rendement

Le laboratoire traite les prélèvements émanant :

- * des services des soins multidisciplinaires ;
- * du service des urgences, du centre des consultations externes.

Le laboratoire à une vocation régionale puisqu'il Il reçoit également les patients « externes » de la région de Fès-Boulemane et des régions limitrophes.

Le tableau ci-dessous montre le rendement en nombre de tests réalisé en 2012 selon les disciplines.

Tableau (2) : Le rendement en nombre de tests réalisé en 2012 selon les disciplines.

	Nombre de test annuel (NA)	Rendement(%)
Biochimie	90766	49%
Hématologie	85658	46%
Autres :Serologie,Immunologie, Parasitologie Et Bactériologie	8876	5%
Total (T)	185300	100

Nous avons dénombré 85658 tests relatifs à la paillasse d'hématologie soit 46 % du total des tests réalisés. si on a pu atteindre ce nombre c'est du au fait que la numération et la formule sanguine sont traités par des automates d'hématologie capable d'analyser et de livrer des résultats de 21 paramètres d'un échantillon sanguin avec une cadence d'environ 80 prélèvements par heure.

A- Partie théorique

I. Définitions

1. Analyses médicales

De nombreuses maladies sont mises en évidence grâce à une analyse de laboratoire après un prélèvement d'un tissu de l'organisme. L'intérêt majeur du suivi biologique est la détection précoce et le traitement d'une pathologie.

Les analyses de laboratoire (appelées également analyses biologiques) permettent de suivre l'évolution d'une maladie. [1][12]

2. Fiche technique

La fiche technique est une fiche descriptive des indications relatives aux caractéristiques d'un produit ou d'un réactif. Elle comporte aussi des procédures et des modes opératoires écrites datées et techniquement validées.

3. La précision analytique

La précision donne une idée sur la qualité de l'accord entre des mesures répétées, effectuées sur un même échantillon et réalisées dans des conditions déterminées et constantes. [2]

4. Numération formule sanguine (NFS)

C'est l'examen le plus demandé en pratique quotidienne.

La NFS comprend la numération des éléments figurés du sang, le dosage de l'hémoglobine(Hb), la détermination de l'hématocrite, le calcul des indices érythrocytaires, et la formule sanguine avec le calcul du nombre et du pourcentage des différentes catégories de globules blancs. [3]

5. Contrôle de qualité

C'est l'ensemble des procédures de vérification visant à garantir la fiabilité d'une méthode et la bonne qualité des différentes analyses biologiques.

Il se compose du : Contrôle de qualité intra-laboratoire du calibrage et de la reproductibilité. Il permet au laboratoire de valider techniquement une série de mesures ou le choix d'une technique d'analyse. [2]

6. Substance de référence (étalon ou contrôle)

C'est une substance dont une ou plusieurs propriétés ont été suffisamment définies pour servir à l'étalonnage d'un appareil ou à la vérification d'une méthode de mesure.

7. Etalon ou standard

Il sert à établir la fonction d'étalonnage. On distingue:

✚ Les étalons primaires

Ce sont des étalons dont tous les constituants sont connus et entièrement définies. Ils sont élaborés par des matériaux de référence.

✚ Les étalons secondaires

Ce sont des sérums dont les résultats sont obtenus par comparaison aux étalons primaires

8. Contrôle

Il est constitué d'échantillons contenant une quantité défini de la ou des substances à doser.

Il doit être stable dans le temps et identique dans sa composition et propriétés aux échantillons naturels à analyser.

Il est analysé par la même méthode afin de servir au contrôle de qualité et non à la calibration.

9. Répétabilité

La répétabilité d'une méthode se rapporte à des essais de la même grandeur, effectués dans des conditions aussi stables que possibles et à courts intervalles.

Elle est évaluée en procédant à des déterminations complètes et distinctes sur des échantillons identiques provenant du même lot homogène de produit. Cela permet d'évaluer la précision de la méthode dans les conditions opératoires normales.

10. Les erreurs

Plusieurs facteurs sont à contrôler pour éviter de rendre des analyses contenant des erreurs. On distingue :

Erreur grossière

Ces erreurs sont parfois difficiles à détecter. Elles sont dues à un manquement dans les critères de praticabilité dont essentiellement la rapidité d'exécution d'une méthode qui ne doit jamais être obtenue au dépend d'autres qualités. Elles proviennent le plus souvent de l'inattention ou de la négligence à cause d'une mauvaise organisation du laboratoire (essentiellement le secrétariat).

Erreur systématique

C'est la moyenne qui résulte d'un nombre infini de mesures d'un même paramètre effectués dans des conditions de répétabilité moins une valeur vraie du paramètre.

Elle conduit à des résultats anormalement abaissés ou augmentés affectant tous les spécimens. Il s'agit souvent d'une altération de l'étalon ou de l'appareil lui-même.

Erreur aléatoire

C'est le résultat d'une mesure moins la moyenne d'un nombre infini de mesures du même paramètre effectués dans des conditions de répétabilité.

[1][5][6][7]

11. Validation technique

Elle comporte la vérification de la conformité des conditions d'exécution aux procédures et tient compte notamment des résultats obtenus avec les échantillons de contrôle.

12. Validation biologique

La validation biologique est le contrôle de la cohérence des résultats d'analyses d'un même dossier, et leur confrontation avec les résultats antérieurs. Elle peut nécessiter la connaissance de l'état clinique du patient avec les résultats antérieurs. Elle est assurée par un biologiste. [2][16]

II. Processus des analyses médicales

1. Etape pré-analytique

+ Définition et importance

L'étape pré-analytique est une série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien et finissant au début de la phase analytique. Elle comprend : la demande d'analyse (bon de laboratoire ou ordonnance médicale), la préparation du patient, le prélèvement du spécimen et l'acheminement jusqu'au laboratoire des services hospitalier, ou au sein du laboratoire, pour les prélèvements émanant de la salle de prélèvement.

+ Processus

- **Cas des prélèvements effectués dans le laboratoire**

Le patient muni de la prescription médicale est reçu par le poste d'accueil de la salle de prélèvement, où l'on prescrit les renseignements nécessaires sur le bon d'examen : l'identification du patient, l'examen demandé, date, la nature du prélèvement. Le patient muni du bon ou des bons d'examen passe au poste des préleveurs,

- **Cas des prélèvements émanant des services hospitaliers**

Le personnel qui ramène les prélèvements accompagnés de leur bon d'examen est reçu par le poste d'accueil (secrétariat) et est orienté vers les différentes paillasse d'analyse où se fera le tri et la vérification de l'adéquation de l'identification entre le prélèvement et le bon d'examen (étape analytique).

2. Etape analytique

+ Définition et importance

Le processus de la prise en charge des prélèvements inclut l'exécution de l'analyse à côté de la validation technique des résultats.

L'étape analytique est une étape clef dans le processus de la prise en charge des échantillons par le laboratoire puisque la recherche de la fiabilité des résultats est une préoccupation essentielle du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire qui travaillent dans ce processus.

Processus

L'étape analytique comprend la préparation de la paillasse, la vérification de la conformité, l'analyse et en fin la validation technique et l'enregistrement des données.

3. Etape post-analytique

Processus

Les rapports des résultats sont transmis au poste de secrétariat. Les différents comptes rendus d'un même patient sont groupés et classés selon l'index du dossier ou le numéro d'entrée pour les cas hospitalisés et selon le numéro d'identification ou celui de la quittance pour les patients externes.

Après validation biologique et signature des résultats, ces derniers sont ensuite adressés aux différents services ou remis aux patients externes ou à un membre de leur famille munis du reçu d'obtention des résultats. [10]

III. la numération formule sanguine (NFS)

1. Numération sanguine

La numération formule sanguine comprend deux types d'examen, un examen quantitatif ou numération sanguine et un examen qualitatif: étude morphologique des différents composants du sang, comportant la formule blanche et la recherche des anomalies morphologiques des cellules sanguines.

La numération apprécie le taux des différentes cellules sanguines pour un volume donné de sang. Le système international d'unité (SI) préconise d'exprimer le volume de sang en litre. En pratique on exprime encore souvent la numération en N cellules / mm³ de sang.

a. Méthodes de détermination de la NFS

Auparavant, la numération s'effectuait par une technique manuelle au microscope en utilisant des cellules quadrillées et graduées: cellules de Malassez ou cellules de Thomas.

Actuellement, la numération est effectuée à l'aide d'automates qui sont d'une grande précision puisqu'ils comptent pour la plupart environ 10000 cellules. [13]

b. Les objectifs de l'automatisation

Les objectifs des cytologistes en matière de l'automatisation de la numération et de la différenciation des cellules sanguines est d'améliorer le confort des techniciens par la suppression de gestes manuels dont le comptage manuel et l'établissement de la formule traditionnelle, d'augmenter le rendement productif de raccourcir le délai de rendu des résultats au prescripteur et de déterminer, de manière fiable, sur de petits échantillons sanguins, un grand nombre de paramètres concernant les érythrocytes, les leucocytes, les thrombocytes voire même les réticulocytes.

Les nouveaux appareils de comptage automatiques sont dotés d'alarmes qui attirent la vigilance du biologiste. [17]

c. Principes de mesure

Les examens sont effectués à partir d'un prélèvement sanguin, le plus souvent sur EDTA qui est un chélateur du calcium. Ceci évite la formation de caillot dans le tube. La présence d'un caillot induit des résultats erronés. [10]

d. Comptage des globules rouges (GR) et des plaquettes

Les automates utilisent des principes divers. Le comptage des hématies et des plaquettes utilisent :

❖ Les principes de l'impédance volumétrique des particules

Le comptage des cellules se fait grâce à la technologie de l'impédance qui implique le passage de cellules en suspension à travers un micro orifice, de part et d'autre duquel se trouvent deux électrodes entre lesquelles passe le courant électrique. Le passage de chaque cellule modifie l'impédance électrique et elle peut donc être comptée. Le degré de variation est directement proportionnel à la taille (volume) de la cellule.

❖ La méthode d'hydro-focalisation

Utilise un double manchonnage aval et amont qui focalise les cellules au travers de l'orifice de comptage garantissant ainsi le passage à travers l'orifice en une seule file cellulaires et éliminant donc les estimations de volumes incorrectes qui peuvent par exemple se produire si 2 cellules passent en même temps. [14]

e. Comptage des Leucocytes

Le comptage des cellules nucléées se fait par la méthode optique en utilisant un laser semi- conducteur, à une longueur d'onde de 633 nm, qui illumine une chambre de mesure (Flow Cell) dans laquelle les cellules sont injectées par un système de focalisation hydrodynamique (cytométrie de flux).

Un réactif de dilution (Stromatolyser-FB) détruit les GR et Plaquettes et lyse les GB pour les ramener à l'état de noyau. Après passage en cytométrie, un scattergramme est généré utilisant le signal « Forward scattered light » qui compte tous les noyaux cellulaires.

f. Dosage de l'hémoglobine

Le dosage de l'hémoglobine est réalisé dans une chambre spécifique (canal Hb) par photométrie. C'est une réaction colorimétrique utilisant soit :

❖ Réactif de Sodium Lauryl Sulfate (SLS)

Après dilution, l'échantillon est mis en contact avec le SLS qui lyse l'ensemble des hématies et transforme l'hémoglobine en complexe SLS-Hb. L'absorbance est mesurée à 555 nm et comparée au blanc (réalisé pour chaque échantillon). La concentration de l'Hg est directement issue de cette mesure d'absorbance.

L'avantage de cette technique est l'utilisation du SLS qui n'est pas toxique pour l'environnement. En effet, ce réactif ne contient pas de cyanure et les effluents ne nécessitent pas de traitement chimique particulier.

C'est ce réactif qu'on utilise pour le dosage de l'HB dans le laboratoire de l'hématologie.

❖ Méthode de la cyan-méthémoglobine

Le sang est mis dans une solution comprenant du ferricyanure de potassium et du cyanure de potassium. Le fer ferreux de l'Hb et de ses dérivés sera oxydé par le ferricyanure en fer Ferrique avec formation de méthémoglobine. Celle-ci se combine au cyanure du potassium pour donner lacyan méthémoglobine (pigment stable) qui a une absorption maximum aux alentours de 540 nm de longueur d'onde. La réaction se fait à pH légèrement alcalin (7 – 7,4) pour éviter toute turbidité qui peut apparaître si le pH est acide. [17] [11] [9]

La figure ci-dessous résume le principe du dosage de l'hémoglobine

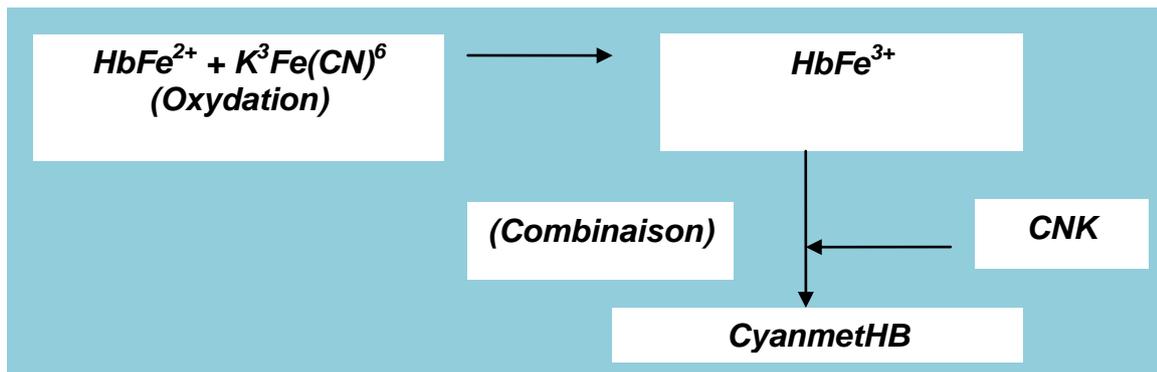


Figure 2 : Principe du dosage de l'hémoglobine

g. Détermination de l'hématocrite

L'hématocrite est la mesure du volume de globules rouges entassés par rapport au volume du sang total. Le résultat est exprimé en pourcentage.

$$\text{Hématocrite} = \text{VG}/\text{VST}$$

- VG : le Volume Globulaire.
- VST : le Volume Sanguin Total [11]

h. Détermination des constantes érythrocytaires

A partir du nombre des globules rouges, du taux de l'Hb, et de l'hématocrite on peut calculer des indices globulaires ou constants érythrocytaires. Ces indices sont fournis par les compteurs électroniques mais peuvent aussi être calculés facilement lors de l'utilisation de méthodes manuelles (en urgence par exemple).

- ❖ **VGM** : Défini par la formule : $\text{VGM} = \text{hématocrite} / \text{nombre de globules}$
- ❖ **CCMH** : Elle définit la concentration moyenne des globules rouges en Hb et exprime la quantité d'Hb rapportée au volume des globules rouges :

$$\text{CCMH} = \text{hémoglobine} / \text{hématocrite}$$

- ❖ **TCMH** : Elle exprime la quantité d'Hb contenue dans un globule rouge : $\text{TCMH} = \text{hémoglobine} / \text{nombre des globules rouges}$. [17]

2. La formule sanguine ou différenciation leucocytaire

La formule sanguine est la répartition en pourcentage des 5 grandes populations de leucocytes présentes chez le sujet normal: polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, polynucléaires basophiles, monocytes, lymphocytes.

La formule sanguine peut être faite à partir du frottis sanguin. En fait, les automates de laboratoire effectuent pour la plupart automatiquement la formule leucocytaire.

L'interprétation de la formule ne devra tenir compte que du chiffre total de chaque population leucocytaire par unité de volume. En effet, les chiffres rendus en pourcentages sont influencés par les variations quantitatives d'un groupe cellulaire par rapport à l'autre. L'étude de la simple variation de pourcentage peut induire des erreurs.

a. Méthode manuelle

✚ Principe

La formule leucocytaire correspond à la distribution des différents cellules nucléées (leucocytes et des érythroblastes s'ils existent) lors de l'étalement d'une goutte de sang sur une lame en vue de l'examen morphologique des différents leucocytes.

✚ Prélèvement

- Ponction veineuse prélevée sur EDTA
- ou prélèvement capillaire : déposer une goutte de sang directement sur une lame sans toucher à la peau. [10]

✚ Confection des frottis sanguin

Le frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre, colorée par le May Grünwald Giemsa et lue au microscope optique. L'étude minutieuse du frottis est extrêmement utile au diagnostic cytologique de nombreuses maladies hématologiques

• Principe de la coloration

L'action des ions acides et basiques obtenus après dissociation par de l'eau neutre de deux colorants alcooliques le May Grünwald (éosine – bleu de méthylène) et le Giemsa (éosine – azur de méthylène) sur les éléments cellulaires complémentaires permet d'obtenir quatre affinités : trois orthochromatiques (Acidophile, basophile et neutrophile) et une métachromatique (azurophile).

• Résultats

Une bonne coloration met en évidence l'action complémentaire de tous les composants de deux colorants. Elle est jugée sur un élément neutrophile et ne comporte pas ni dépôts ni artefacts.

✚ Aspect du noyau (au microscope optique)

Noyaux comporte des acides nucléiques et des protéines basiques. La chromatine des cellules nucléées capte à la fois l'éosine et le bleu de méthylène et donnent la couleur violette,

- L'oxychromatine : C'est le fond du noyau, elle est colorée du rose au rouge
- La basichromatine : Ce sont les masses chromatiniennes. Selon le degré de différenciation des cellules, la chromatine apparaîtra :
 - ~ rose violacée pour les chromatines légères
 - ~ violet noir pour les noyaux picnotiques.
- Les nucléoles :

Les nucléoles représentent des zones décolorées ou légèrement bleutées. Ils peuvent être visibles dans les chromatines légères de cellules peu différenciées ou très actives.

La figure ci-dessous montre l'aspect du noyau observé au microscope

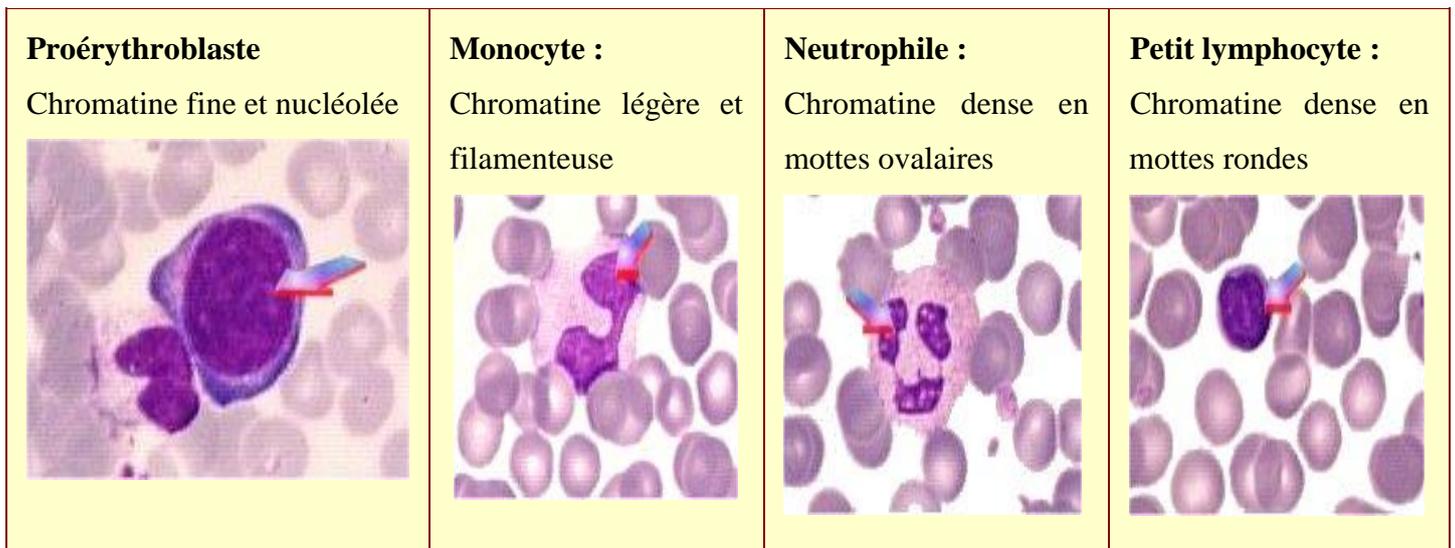


Figure3 : Description de l'aspect du noyau observé au microscope optique [17]

b. Méthode automatisé

Les analyseurs d'hématologie automatiques permettant la formule leucocytaire sont couramment utilisés dans les laboratoires d'hématologies de routine. Ils utilisent différents procédés permettant de les classer en deux grandes catégories : les analyseurs différentiels en 3 populations et ceux en 5 populations

✚ Les analyseurs différentiels en 3 populations

Les globules rouges sont lysés à l'aide de réactifs chimiques tandis que les leucocytes restent intacts. La technologie de l'impédance (principe de l'ABX 60) permet d'identifier, en fonction de la taille, 3 groupes de cellules (C'est la formule " approchée " encore appelée LGM (lympho-, granulo-, mono-) :

- Les cellules de grande tailles ou granulocytes, volume de 160 fl.
- Les cellules de petite taille ou lymphocytes, entre 35 et 90 fl.
- Les cellules de taille moyenne, monocytes, éosinophiles ou basophiles, sont regroupées dans une population mixte.

✚ Les analyseurs différentiels en 5 populations

La capacité des analyseurs à séparer les cellules les moins nombreuses, à savoir les monocytes, les éosinophiles et les basophiles, représente donc une avancée majeure. En effet, les différents types de leucocytes occupent des fonctions diverses et les modifications de la quantité absolue d'une population donnée fournissent donc des informations très pertinentes qui permettent d'orienter le clinicien vers le diagnostic le plus probable et de surveiller la réponse au traitement. [18]

Tableau 3 : représentation des valeurs physiologiques de la NFS

Résultats	Valeurs physiologique	
Numération des Globules Blancs	4 .5 – 10.8	x 10 ⁸ / µl
Numération des Globules Rouges	3.9 -6.1	x10 ⁸ / µl
Hématocrite	37-54	%
Hb	12-17	g %
Taux de plaquettes	140-400	x 10 ³
VGM	81-99	µ ³
TCMH	27-33	Pg
CCMH	32-36	g/dl

IV. Contrôle de qualité interne (CQI)

L'acte de biologie médicale inclut : le prélèvement, l'exécution de l'analyse, et la validation des résultats. Ces résultats concourent à la prévention, au dépistage, au diagnostic, au pronostic, à la surveillance, et à l'épidémiologie des maladies. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle du biologiste et de l'ensemble du personnel du laboratoire.

1. Objectifs

L'objectif de CQI est de fournir des résultats suffisamment fiables pour ne pas entraîner d'erreurs d'interprétation. Il faut donc faire appel à des critères dits de qualité pour le choix d'une méthode d'analyse fiable garantissant des résultats de bonne qualité.

Il existe plusieurs guides et normes internationaux établis par des commissions d'experts qui permettent l'étude détaillée des qualités d'une méthode choisie. Ils s'adressent à toutes les catégories de laboratoire mais particulièrement aux laboratoires accrédités à pratiquer des analyses en série afin :

- de déceler des erreurs ;
- et de les réduire au maximum.

Les règles et recommandations contenues dans ces guides n'ont pas pour objet d'imposer telle ou telle méthode pour pratiquer une analyse déterminée sauf cas particulier régi par des dispositions réglementaires. [2] [4]

2. Approche du CQI

Selon que le paramètre soit quantifiable (exemple dosage de l'Hb) ou non quantifiable (exemple reconnaissance des cellules anormales (blastés) ; les procédés utilisés dans le CQI différent.

a. Cas de paramètres quantifiable

Les critères de fiabilité d'une méthode analytique sont étudiés systématiquement au cours du fonctionnement du laboratoire. Ils prévoient un contrôle systématique des méthodes et des résultats.

La fiabilité analytique d'une méthode repose sur des critères statistiques dont le manquement ou le défaut conduit à des erreurs diverses. Ce sont ces critères qui ont le plus souvent évolués sous le terme de <contrôle de qualité>. Ce sont les critères selon lesquels les performances d'une technique sont jugées satisfaisantes dans les conditions d'emploi définies par l'utilisateur.

Les critères statistiques définissant la précision d'une méthode en appréciant la distribution autour d'une moyenne de résultats d'un grand nombre de mesures sur un même échantillon et en évaluant ainsi les variations inévitables dues au hasard dénommées « erreurs fortuites ».

La précision analytique d'une méthode représente la qualité de l'accord, dans une zone définie de valeurs à mesurer, entre des mesures répétées, effectuées sur un même échantillon, dans des conditions constantes et déterminées.

❖ Calcule de L'imprécision

On calcule habituellement à partir de mesures répétées le manque de précision ou d'imprécision d'une méthode. Celle-ci est déterminée par des critères statistiques :

✚ Courbe de Gauss

Ces critères apprécient la distribution autour d'une moyenne des résultats d'un grand nombre de mesures effectuées sur un même échantillon. Une distribution est dite normale lorsque les résultats se répartissent symétriquement autour d'une moyenne à fréquence élevée (sur une courbe de Gauss). Lorsque la distribution est normale, l'imprécision peut s'exprimer par l'écart type relatif ou par le CV. Les trois indices suivants expriment l'importance de la dispersion des résultats autour de la moyenne :

✚ Calcul des indices

Soit une série de N mesures qui ont fourni des valeurs x_i (x_1, x_2, x_3, x_N)

$$\text{La moyenne } \bar{x} = \frac{\sum x}{N}$$

L'écart d'une mesure x_i par rapport à la moyenne $\bar{x} = x_i - \text{moyenne } \bar{x}$.

$$\text{La variante } s^2 = \frac{\sum (x_i - \text{moyenne } \bar{x})^2}{N-1}$$

L'écart-type s ou déviation standard : (exprimé en valeur absolue)

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \text{moyenne } \bar{x})^2}{N-1}}$$

$$\begin{aligned} \text{L'écart-type relatif sr} &= \frac{s}{\text{Moyenne } x} \\ \text{(par rapport à la moyenne)} & \\ \text{Le coefficient de variation} &= \frac{S}{100} \\ \text{CV} & \\ \text{C'est le } \color{red}{\text{CQI}} & \end{aligned}$$

✚ Calcul de la précision

La précision (gamma Γ) est l'inverse de l'imprécision, Sa description numérique est fournie par la valeur réciproque de l'écart type relatif :

$$\Gamma = sr^{-1} = x / s$$

La précision est dite acceptable lorsque sa valeur reste à l'intérieur des limites établies sur des bases statistiques et choisies en fonction des performances conformes aux critères d'efficacité. [15]

b. Cas de paramètres non quantifiables

Dans les disciplines mettant en œuvre un examen microscopique, (cas de la NFS), on fait appelle à l'étude des frottis sanguins des prélèvements dont les résultats sont anormaux, pour pouvoir confirmer ou infirmer les résultats du compte rendu fournie par l'automate d'hématologie. Il est utile dans ce cas, de conserver des frottis pathologiques et normaux pouvant constituer un élément de référence pour le CQI.

Ces frottis serviront également dans la formation continue des personnels techniciens.

B- Partie pratique

Le stage s'est déroulé sur deux mois au laboratoire du CHR-IK précisément au service de l'hématologie. Durant cette période, j'ai consacré une première étape pour préparer le projet de fin d'étude et une deuxième étape pour sa réalisation.

Durant la période préparatoire j'ai pris connaissance de l'organisation du travail au sein du laboratoire, depuis l'étape pré-analytique jusqu'à l'étape post

analytique en passant par l'analytique. En plus j'ai préparée la documentation relative au thème de mon projet de fin d'étude.

En deuxième lieu, je me suis consacrée à la réalisation de mon projet traitant de la validation des résultats d'une série d'analyse de la NFS. On a procédé d'abord à une collecte des données, puis à leur traitement sous forme de tableaux et graphiques, et en dernier lieu, à leur analyse.

I. Recueil des données

Pour la validation d'une série d'analyses, nous avons recueilli des données dans les différentes étapes du processus de la prise en charge des prélèvements. Cette démarche permet de détecter d'éventuelles erreurs commises depuis l'étape pré-analytique jusqu'au rendu des résultats, en passant par l'étape analytique.

1. Collecte des échantillons de la série

Nous avons collecté 69 échantillons sanguins des services hospitaliers et de la salle de prélèvement adjacente au laboratoire ; celle-ci est réservée pour les malades externes (non hospitalisés).

Avant d'entamer l'examen de mes échantillons, j'applique les conseils de sécurité et d'hygiène des laboratoires d'analyse : le port de la blouse, les gants (pour prévenir les fuites, les déversements et la contamination), les paillasses sont préalablement dégagées et propres, ainsi que l'état du matériel qui va être utilisé.

2. Etude de la conformité des prélèvements

Cette étape précède l'analyse des échantillons, en vérifiant l'identité du patient, la nature du prélèvement, la concordance des renseignements figurant sur le tube de prélèvement et le bon de demande d'examen correspondant, la date du prélèvement, cette vérification est très importante pour éviter les erreurs grossières.

Le sang doit être prélevé dans un anticoagulant EDTA et traité dans les quatre heures suivant le prélèvement, et peut être gardé à une température comprise entre 2 et 8 C.

3. Analyse des échantillons des patients

Au niveau du laboratoire de l'HIK, les prélèvements sanguins des patients ainsi que le sang de contrôle sont analysés par l'automate d'hématologie

Sysmex XT 1800i. La validation technique et éventuellement biologique sont réalisées sur frottis sanguins quand il s'agit de la NFS anormales.

a. Principe

Les procédés de décompte et de différenciation des cellules font appel à la détection volumétrique des particules par variation d'impédance (Impédance volumétrique) et optique.

b. Matériel

Le laboratoire d'hématologie dispose d'un automate. Il s'agit de l'appareil sysmex XT-1800i qui est un analyseur automatique d'hématologie. Il s'utilise pour les diagnostics in vitro en laboratoires clinique. Il est capable d'analyser et de livrer les résultats de 21 paramètres. Il réalise l'analyse du nombre total des leucocytes en utilisant un bloc détecteur photosensible dont le fonctionnement repose sur la méthode de cytométrie de flux et l'utilisation d'un laser semi-conducteur.



Figure 4 : Appareil sysmex XT-1800i d'hématologie

❖ Présentation de l'appareil

L'appareil XT-1800i est un dispositif compact dont le fonctionnement est facile à apprendre. Il est équipé d'un mécanisme de rinçage, après l'aspiration d'un échantillon ou de sang de contrôle, l'aiguille est automatiquement nettoyée.

❖ Réactifs utilisés

- Cellpack(EPK) : est un diluant prêt à l'emploi destiné à l'analyse du sang total via un procédé employant l'impédance et l'effet photoélectrique.
- Stromatolyser-Fb(FBA) : est un diluant destiné à la numération des leucocytes.
- Stromatolyser-4DL(FFD) et Stromatolyser-4DS(FFS) serviront à la détermination de la formule blanche.
- Sulfolyser(SLS) : est un réactif sans cyanure destiné à la détermination de l'hémoglobine.
- Cellclean : est un détergent alcalin puissant qui sert pour la maintenance quotidienne de l'appareil, il est prévu pour éliminer les traces d'agents de lyse Sysmex, de résidus cellulaires et de protéines du sang présents dans le système fluide de l'automate.

❖ Mise en marche de l'analyseur

Avant de commencer les analyses des échantillons, nous tenons à vérifier que les quantités de réactifs disponibles sont suffisantes pour assurer l'analyse du nombre d'échantillons de la journée, ainsi, que la réserve de papiers pour imprimante, et que le conteneur de déchets liquide est vide.

On allume l'ordinateur pour accéder au menu de l'application, ainsi que l'automate pour commencer l'initialisation des paramètres puis lancer l'analyse de l'échantillon. Il faut attendre que la température se stabilise aux valeurs souhaitées avant d'entamer l'analyse des échantillons.

c. Analyse d'échantillon

On fonctionne selon le mode passeur pendant lequel l'agitation, l'aspiration et l'analyse des échantillons sont effectuées de façon automatisées.

d. Résultats :

Le résultat de chaque analyse est imprimé sous forme de rapport. L'automate mentionne :

- les données numériques de l'échantillon. Les résultats en dehors des limites physiologiques sont marqués par un signe positif ou négatif, il s'agit là de valeurs fiables.

D'autres marques accompagnent les résultats numériques ;

- l'Astérix (*) qui signifie résultats non fiables,
- l'alarme @ qui implique résultats en dehors de la linéarité,

- les pointillés (---) à la place de la valeur, ceci s'observe quand l'automate ne peut pas quantifier le paramètre, c'est le cas de la présence de grandes quantité d'érythroblastes
- les alarmes sous formes de message d'anomalies
 - Distribution anormale des GR, population dimorphique
 - Anisocytose, Microcytose, Macrocytose, Hypochromie
 - Lymphocytose, monocytose, neutrophilie, neutropénie.....
- et les messages de suspicion qui sont toujours marqués par un point d'interrogation
 - Agrégats plaquettaires?
 - Erythroblastes?
 - Blastes?.....

4. Contrôle de qualité interne(QCI)

L'assurance qualité est un élément important du laboratoire. Les sangs de contrôles type Sysmex sont spécifiquement élaborés pour chaque système Sysmex Ils permettent le contrôle optimal de chaque technologie, des réactifs et des divers canaux de mesure.

a. L'analyse par l'automate d'hématologie

❖ Objectif

Ce procédé servira pour le contrôle des résultats des paramètres quantifiables, à savoir la numération des GR, des plaquettes, des GB, le dosage de l'hémoglobine, et des constantes correspondantes.

❖ Matériel

La détermination de la numération sanguine du sang de contrôle est faite par l'automate d'hématologie et les réactifs correspondants. Il s'agit d'un sang de contrôle humain de commerce dont la date de péremption est 19/07/13 et dont les valeurs cibles figurent dans le tableau 4

Tableau (4) : Représentation des valeurs cibles du sang de contrôle

	GB	GR	HBG	HCT	VGM	TCMH	CCMH	PLQ
--	----	----	-----	-----	-----	------	------	-----

Valeurs cibles hautes	11,1	4,94	13,9	40,9	84	30,7	36,2	285
Valeur cibles basses	9,1	4,64	12,9	36,1	76	25,1	32,8	225

❖ Méthode :

Le sang de contrôle est traité dans les mêmes conditions que les échantillons des patients. Les résultats obtenus sont enregistrés journalièrement sur un tableau. Sur la première ligne figurent les valeurs cibles du sang de contrôle, et sur les lignes suivantes, sont inscrits les dates de la détermination et les résultats obtenus du contrôle.

Cette inscription va servir à surveiller les appareils, le matériel et la qualité de la méthode de travail.

b. L'analyse manuelle

❖ Objectif

Le procédé manuel servira pour le CQI des paramètres non quantifiables à savoir, l'examen des frottis au microscope optique, qui sera utile pour l'identification et la quantification des cellules anormales que l'automate ne reconnaît pas, à savoir : granulocytes immatures, érythroblastes, lymphocytes atypiques, agrégats plaquettaires, anomalies morphologique des GR (fragments).

L'examen des frottis servira également à la vérification des numérations accompagnées d'Astérix ou de pointillé fourni par l'automate.

❖ Matériel et réactifs

Pour la confection, la coloration et la lecture des frottis, nous avons utilisé le matériel et réactifs suivants :

- lames propres et dégraisser prêt à l'emploi à bord rodé ;
- Micropipettes ;
- Le microscope optique, huile à immersion ;
- Colorants MGG : kit RAL.

❖ Méthode

✚ La confection des frottis

Nous avons confectionné des frottis de sang dont le rapport d'analyse présente des anomalies, c'est-à-dire présentant :

- des résultats non fiables (marqués d'un Astérix) ;
- des résultats en dehors de la linéarité (accompagné d'une alarme @ ou de pointillés à la place de la valeur) ;
- ou bien des messages d'anomalie ou de suspicion.

Coloration

On prolonge la lame 5 fois dans le flacon 1 (FIX-RAL 555), on égoutte l'excédent sur papier filtre, et on le met dans le flacon 2 (EOSINE-RAL 555) ensuite dans le flacon 3 (BLEU-RAL555). Pour finir on lave rapidement la lame à l'eau déminéralisée. [8]

II. Traitement des données et interprétation

Les données recueillies relatives au traitement et à l'analyse de nos échantillons sont présentées sous forme de tableaux et représentées sous forme de graphiques afin d'être interprétées et analysées.

1. Répartition des échantillons selon leur provenance

a. Répartition selon l'origine

Au cours de notre période de stage effectuée dans le laboratoire d'hématologie nous avons pu recueillir 69 prélèvements de patients à la fois hospitalisés et provenant de l'extérieur

Le tableau (5) donne l'effectif et le pourcentage des deux types d'échantillons traités.

Tableau (5)- incidence de cas des patients interne et externes

Provenance	Patients externes	Patients hospitalisés	Total
Nombre de cas	43	26	69
Pourcentage(%)	62	38	100

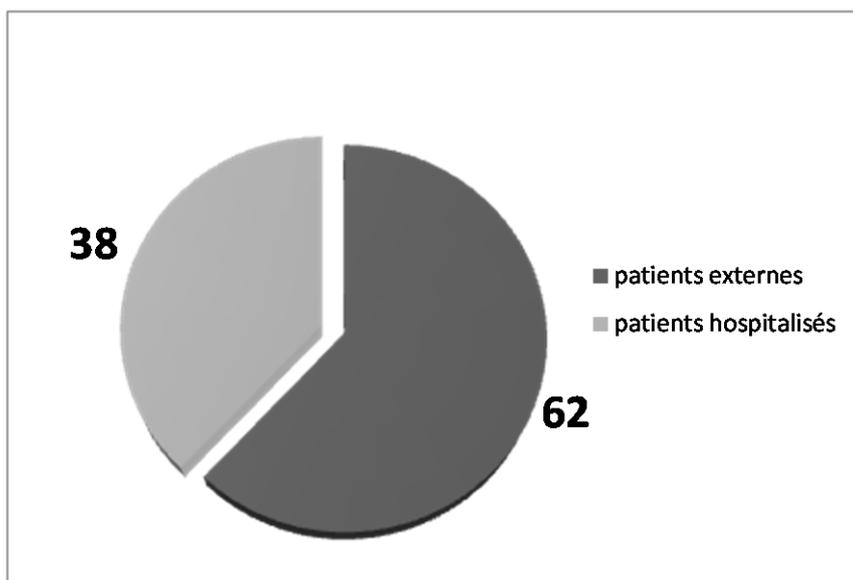


Figure (5) : Pourcentage de cas des patients interne et externes

D'après la figure (4), nous constatons que le nombre de demandeur d'analyse du sang externes est supérieur (62%) à celui des patients hospitalisés.

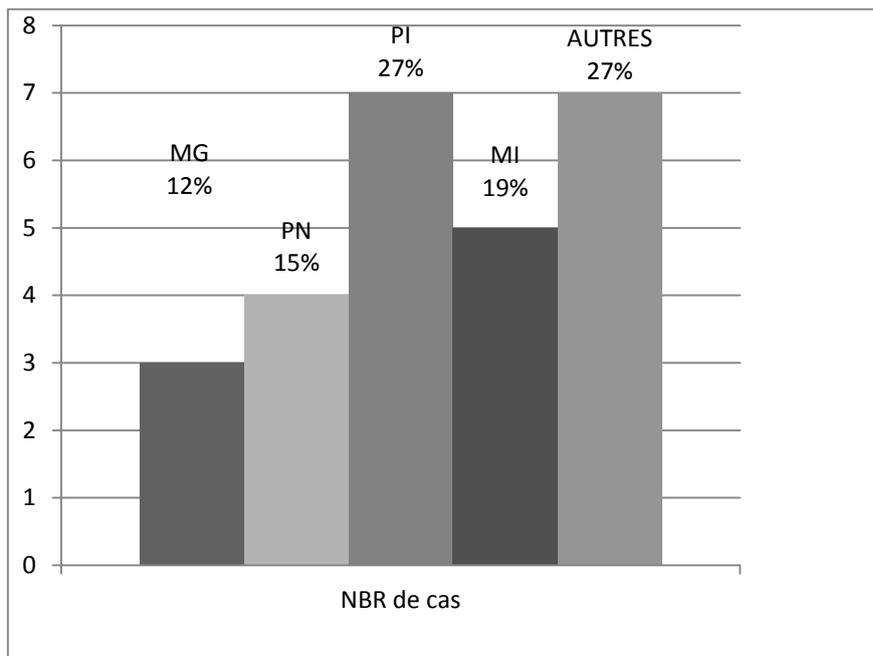
La demande de sang dans les services est variable selon le nombre des hospitalisé ; la charge de travail, la demande ou non d'une NFS, etc. mais au laboratoire la demande est fixe et gérée par des rendez vous ce qui nous donne un nombre fixe que nous qui le détermine.

b. Répartition selon les services

D'après le tableau (6), et la figure correspondante, parmi les 69 prélèvements, 26 d'entre eux proviennent des différents services hospitaliers. La moitié (46 %), soit 12 cas, émanent de la pédiatrie et de la médecine interne.

Tableau(6) : Incidence des cas de patients selon les services

Services	Medecin e général (MG)	Pneumoph -tisiologie	Pédiatrie (PI)	Médecin e interne (MI)	Autres	Total
Nombre de cas	3	4	7	5	7	26
Pourcenta ge (%)	12	15	27	19	27	100



Figure(6) : Pourcentage de cas des patients selon les services

Les pourcentages sont relativement proche ce qui explique que la NFS est un examen important pour les différents disciplines médicales ; dont repose plusieurs diagnostics des maladies.

2. Répartition selon la mention de l'identité du patient

a. Répartition selon l'âge

Sur l'ensemble des demandes d'analyses reçus au service d'hématologie (ordonnances et bons d'examens), seule la moitié ont mentionné leur âge (35 cas), ce qui représente 51% (Tableau 7).

Tableau (7) : Incidence de cas selon la mention de l'âge

	Patients hospitalisés	Patients externes	Total
Nombre de cas	26	43	69
Nombre de cas où l'âge est mentionné	23	12	35
Pourcentage (%)	33,5	17,5	51

Tableau (8) : incidence de cas de patients selon l'âge

Age	Hospitaliers			Externe			Total
	N.Né	1à 2 ans	adulte	N.Né	1à 2 ans	Adulte	
Nombre de cas	6	—	17	—	2	10	35
Pourcentage(%)	17	—	49	—	6	28	100

La majorité des malades (hospitalisés ou externes) sont des adultes (27 cas) soit un pourcentage de 77. Le reste des sujets traités sont répartis comme suit :

- 06 nouveau-nés, ils sont tous hospitalisés ;
- 02 nourrissons externes.

b. Répartition selon le sexe

Tableau(9) : incidence de cas de patients selon le sexe

Sexe	Femme	Homme	Total
Nombre de cas	51	11	62
Pourcentage(%)	82	18	100

Il ressort de ce tableau que la plupart des patients sont des femmes (82%). Les femmes enceintes (7 cas), représentent 10 % de l'effectif.

C'est un pourcentage non négligeable puisque la NFS est systématiquement demandé par le gynéco obstétricien en cas de grossesse pour un suivi médical.

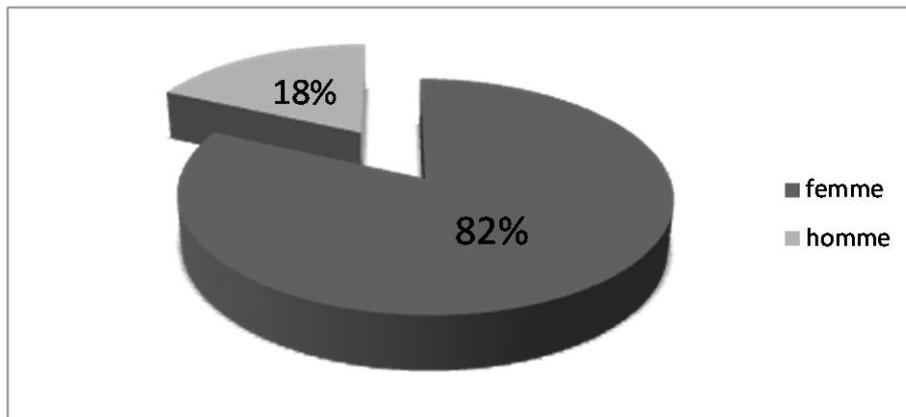


Figure (7) : Pourcentage de cas des patients selon le sexe

3. Répartition selon la mention des Renseignements cliniques(RC)

a. Existence de RC

On rappelle que les RC regroupent toutes les informations :

- L'identité du patient
- L'âge
- Le diagnostic

Tableau(10) : incidence de cas d'échantillon possédant des RC

RC	Externes		Hospitaliers		Total
	Oui	Non	Oui	Non	
Nombre de cas	20	23	22	4	69
Pourcentage(%)	29	33	32	6	100

Presque les deux tiers (61%) des cas où les RC sont mentionnés, soit 42 cas. On rappelle que 26 bons d'examens sont adressés par les services hospitaliers. Les RC figurent sur presque la totalité de ces bons d'examen (22 bons), ce qui représente 85%.

b. Répartition selon le diagnostic

On dresse la liste des différents diagnostics ou symptômes mentionnés, selon l'origine hospitalière ou externe :

Tableau (11) : incidence de cas d'échantillon possédant le diagnostic

	Symptômes	Nombre de cas
Patients hospitalisés	Saignement ou anémie ou thrombocytose	6
	Syndrome inflammatoire et/ou infectieux	5
	Diabète	7
	Autres pathologies	4
Patients externes	Femme enceinte	7
	Bilan préopératoire (BPO)	6
	Diabète :	4
	Autres pathologie (RAA, IRC Hépatite virale C)	3

4. Répartition selon la conformité des prélèvements

Si on tient compte de l'identité des patients, bon nombre de cas ne comporte pas tous les éléments de l'identité du patient dont l'âge : 49 % des cas (34 cas).

Si on considère la mention du sexe, le chiffre est relativement bien en dessous de celui de l'âge, il est de 7 cas, soit 10 %.

A coté de ces anomalies, nous avons dénombré trois autres cas non conformes, car l'adéquation du volume du sang et de l'anticoagulant n'était pas respectée.

5. Données relatives aux résultats de la NFS des patients

Le tableau ci-dessous montre la répartition des résultats normaux ou pathologique des NFS des patients

Tableau (12): la répartition des résultats selon les cas de la NFS

	NFS normal	NFS pathologique	Total
Nombre da cas	43	26	69
Pourcentage	62	38	100

Parmi les 69 échantillons des patients analysés, nous avons recensé :

- 43 cas de NFS normale ;
- 10 cas de NFS avec le résultat comportant des alarmes + ou - ;
- 16 cas de NFS dont le résultat porte des anomalies de suspicion ou résultats non fiables.

Les différentes anomalies rencontrées sur le rapport des patients figurent sur le tableau 13 :

Tableau (13) : Les différentes anomalies rencontrées sur le rapport des patients

Types d'anomalies	Nombre de cas
Distribution anormale des GR et/ou des plaquettes Astérix au niveau des plaquettes et suspicion agrégats plaquettaires	8
L'Astérix à coté des valeurs de la formules sanguines avec les messages suivants : Granulocytes immatures et ou lymphocytes atypiques	5
Présence éventuelle d'érythroblastes	1
Pointillée à la place des valeurs de la formule blanche	1
Suspicion de blastes	1
Total	16

6. Données relatives au CQI

a. Résultats du dosage du sang de contrôle

Suite à l'analyse du contrôle du sang de contrôle par l'automate d'hématologie, les résultats obtenus figurent sur le tableau 14 :

Tableau (14) : Résultats du sang de contrôle obtenus par l'automate

	GB	GR	HBG	HCT	VGM	TCMH	CCMH	PLQ
VC.haute	11,1	4,94	13,9	40,9	84	30,7	36,2	285
VC.basse	9,1	4,64	12,9	36,1	76	25,1	32,8	225
Valeurs observés de CS	10,01	4,93	13,8	40,3	83,8	28,0	33,4	229
Validation du résultat	oui	oui	Oui	Oui	oui	oui	Oui	Oui

Il ressort de ce tableau, que les valeurs du CS sont incluses dans l'intervalle des valeurs cibles fournies par le fournisseur et ceci concerne la numération des GB, GR, HBG, HCT, VGM, TCMH, CCMHP et des PLQ.

b. Résultats de l'étude microscopique des frottis sanguins

Nous avons étudié au microscope optique 16 frottis portant les anomalies susmentionnées dans le tableau (13) et on a obtenus les résultats suivants :

L'examen des 8 frottis correspondant aux cas de distribution anormale des GR et/ou des plaquettes avec Astérix au niveau des plaquettes et suspicion agrégats plaquettaires, a révélé :

- des anomalies morphologiques des GR en abondance, à savoir des hématies piriformes, allongées ou fragmentées (schisocytes) ;
- et/ou des anomalies de taille ; macrocytose ou anisocytose accompagnées ou non d'agrégats plaquettaires

La vérification sur frottis de 5 cas de rapports de résultats comportant l'Astérix à coté des valeurs de la formules sanguines portant les messages suivants : Granulocytes immatures et ou lymphocytes atypiques, nous a permis d'identifier chez ces patients des métamyélocytes ou des cellules hyperbasophiles à des taux très faibles de l'ordre de 1 à 2 %.

Quant aux 3 cas possédant respectivement les alarmes (tableau 13) :

- Présence éventuelle d'érythroblastes ;
- Pointillée à la place des valeurs de la formule blanche ;
- Suspicion de blastes.

Nous avons refais le comptage manuel de la formule blanche puisqu'on a observé des érythroblastes, chez les deux premiers patients. Il est à noter que l'analyseur compte les érythroblastes parmi les GB, donc, nous avons soustrait la valeur absolue des érythroblastes de la numération blanche, c'est ce qu'on désigne par la numération blanche corrigée.

Nous avons pu identifier de rares cellules peu différenciées chez le 3ème sujet.

C- DISCUSSION

L'objectif de cette étude est la validation de la série d'analyse effectuée sur du sang de patients à l'aide de l'automate d'hématologie. Cette validation à comporter deux volets : une validation technique et une validation biologique.

La fiabilité des résultats de la NFS ne dépend pas uniquement de la validation technique de l'analyse. Des erreurs peuvent provenir de n'importe quelle étape du processus de la prise en charge du prélèvement depuis la préparation du patient pour le geste de prélèvement jusqu'au rendu des résultats.

I. Validation technique

Elle est du ressort de l'opérateur. Celle-ci concerne essentiellement les paramètres quantifiables, à savoir la numération des cellules sanguines, le dosage

de l'hémoglobine et la détermination des constantes correspondantes. Cette tâche est relativement aisée grâce à l'emploi du sang de contrôle.

D'après les résultats du CQI (tableau 14), qui sont inclus dans l'intervalle des valeurs cibles, on peut dire que la méthode employée est correcte, et que les résultats de la série d'analyse des échantillons des malades sont validés techniquement.

Cependant, le procédé employé par l'analyseur d'hématologie a ces limites puisqu'il ne peut pas identifier certaines anomalies qui concernent les paramètres non quantifiables. Ce sont celles qui ont été mentionnées dans les 16 rapports de la NFS (Tableau13). Le recours à la méthode manuelle qui consiste en l'observation des frottis au microscope optique s'avère indispensable pour l'identification cellulaire ou la confirmation de ces anomalies. Dans ce cas l'opérateur doit être sensibilisé et convaincu de l'utilité et de la nécessité de cette étape de contrôle. Une formation continue sur les procédures d'hématologie et sur les bonnes pratiques est indispensable pour garantir la fiabilité des résultats d'analyse d'hématologie ainsi que ceux des autres spécialités des analyses médicales.

II. Validation biologique

Après l'analyse, les rapports des résultats comportent à leur entête les coordonnées du laboratoire et l'identité du biologiste, en plus de celle du patient. Le biologiste assurera l'interprétation et la validation dite biologique des résultats de la NFS après s'être assuré que leur exécution est conforme aux recommandations de la procédure de l'analyse, entre autre celle du CQI. Sa tâche consiste à comparer les résultats observés des malades avec les valeurs physiologiques des différents paramètres de la NFS, et avec le/ou les résultats antérieurs. Il vérifie également la corrélation inter-analyses (exemple d'anémie hypochrome microcytaire et fer sérique bas). Le statut clinique et l'identité du patient sont un outil important. C'est le cas de l'Hb basse chez une femme enceinte, ou de l'inversion de la formule sanguine chez l'enfant de deux ans. La provenance des unités de soin dans laquelle le patient est hospitalisé oriente le biologiste, c'est le cas des anémies macrocytaires fréquemment rencontrées chez les patients suivis par le médecin interne de l'hôpital.

La tâche du biologiste peut s'avérer difficile dans certaines situations. En effet, et comme le montre les données sur la conformité des prélèvements, l'âge

des patients manquent dans 34 rapports, ce qui constitue un handicap de l'interprétation des valeurs observées en fonction de l'âge. Par contre, le problème se pose rarement, quant il s'agit de la mention du sexe (10% des cas), puisqu'il est possible de le deviner à partir du prénom du patient.

Autres difficultés rencontrées c'est le fait que le 1/3 des bons d'examen ne mentionne pas les RC, ajouter à cela le non respect du rapport volume du sang/anticoagulant, source d'erreurs de l'analyse. On a dû rejeter les échantillons de deux patients entrant dans cette catégorie de non-conformité.

Conclusion

La démarche qualité permet d'identifier les sources d'erreurs dans le domaine de la prise en charge des prélèvements destinés à l'analyse hématologique. Elle assure un cadre de travail adéquat et engage le laboratoire dans un processus d'amélioration continue de ses prestations.

C'est dans ce cadre que s'inscrit le contrôle de qualité interne qui s'avère indispensable pour assurer la fiabilité de la validation des résultats au sein du laboratoire de l'hématologie au CHR Ibn Al Khatib à Fès.

La mise en œuvre de cette démarche, nous a donné l'occasion de mieux maîtriser les processus suivis par le laboratoire et de les améliorer dans un souci de cohérence, également d'efficacité.

Enfin, la mise en place du CQI en hématologie semble être un lien indispensable pour réunir les deux disciplines : la qualité qui est un ensemble de processus, et l'hématologie qui est une science du vivant, les deux au service du patient.

Annexe

Figure (1) : la situation géographique de l'HIK.....	6
Tableau (1) : L'effectif du personnel dans le laboratoire de l'HIK.....	8
Tableau (2) : Le rendement en nombre de tests réalisé en 2012 selon les disciplines.....	9
Figure (2) : Principe du dosage de l'hémoglobine.....	17
Figure(3) : Description de l'aspect du noyau observé au microscope optique..	19
Tableau(3) : représentation des valeurs physiologiques de la NFS.....	20
Figure (4) : Appareil Sysmex Xt 1800i d'hématologie	26
Tableau (4) : Représentation des valeurs cibles du sang de contrôle.....	28
Tableau (5): incidence de cas des patients interne et externes.....	30
Figure (5) : Pourcentage de cas des patients interne et externes.....	31
Tableau(6) : incidence des cas de patients selon les services.....	31
Figure(6) : Pourcentage de cas de patient selon les services	32
Tableau (7) : incidence de cas selon la mention de l'âge.....	32
Tableau (8) : incidence de cas de patients selon l'âge.....	33
Tableau(9) : incidence de cas de patients selon le sexe	33
Figure (7) : Pourcentage de cas des patients selon le sexe.....	34
Tableau(10) : incidence de cas d'échantillon possédant des RC	34
Tableau (11) : incidence de cas d'échantillon possédant le diagnostic.....	35
Tableau (12): la répartition des résultats selon les cas de la NFS.....	35
Tableau(13) : Les anomalies rencontrées sur le rapport des patients.....	36
Tableau(14) : Résultats du sang de contrôle obtenus par l'automate	36

Bibliographie et webographie

- 1- **TAYLOR B.N., KUYATT C.E.**NIST Technical note 1297, édition 1994. (National Institute of Standards and Technology) USDepartment of Commerce.
- 2- **Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale(GBEA).**Arrêté du 26 novembre 1999, journal officiel de la République Française du 11 décembre 1999.
- 3- **Rouessac F, Rouessac A. Analyse chimique-Méthodes et techniques instrumentales modernes.** 5éme Edition 2000, Dunod, Paris.
- 4- **Cofrac. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale.** Documentable gta 06, Juillet 2005.
- 5- **Vassault A. 1991. Procédures d'assurance qualité dans le traitement des analyses.**
- 6- **Feinberg M. La validation des méthodes d'analyse.** Paris, Masson, 1996.
- 7- **Contrôle de qualité des examens de laboratoire.** SIMEP 1971.Lyon-ERANCE.
- 8- **DATRY A., LECSO G., RICHARD-LENOBLE D. et KOMBILA M.** coloration rapide des plasmodies et des microfilaries par les colorants solubles dans l'eau, Med Trop, vol 42, n :6, nov-déc 1982, p. 673-675.
- 9- **Oshiro, I. et al : New method for hemoglobin determination by using Sodium Lauryl Sulfate (SLS),** Clinical Bio. 15:83-88, 1982.
- 10- **Centre Hospitalier de Niort :- Laboratoire de biologie, procédure prise en charge des examens biologiques dans le cas des urgences vitales (pronostic vital engagé),** V2j/P-LAB-01.-Version n 01.Edité le 19/04/2010
- 11- **J.D. Bower, P.G. Ackerman and G. Toto, eds., "Evaluation of Formed Elements of Blood,"** in **Clinical Laboratory Methods** (St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1974.
- 12- <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/analyses-medicales-interets>
- 13- http://www.next-up.org/pdf/CEM_et_alteration_Numeration_Formule_Sanguine.pdf
- 14- <http://www.em-consulte.com/article/61173/h%C3%A9mogramme%C2%A0-%C3%A9alisation-par-un-autom>.
- 15- <http://www.labomediqua.ch/cq/ContrInt.htm>
- 16- <http://www.bio-oise.fr/informations-patients-analyse-biologique-medicale.htm>.
- 17- http://www.anapatiaret.com/LES_GLOBULES_ROUGES_A1-2008.pdf .
- 18- https://www.sysmex.com/US/en/Brochures/Brochure_XT-2000i_and_XT-1800i_MKT-10-1136.pdf