



Université Sidi Mohamed Bn Abdelah  
Faculté des sciences et techniques-Fès



# Projet de fin d'étude

## Apport de la coloration automatisé dans l'hémogramme au Laboratoire Central d'Hématologie Hôpital Ibn Sina-Rabat

Licence Sciences et Techniques  
Spécialité : Biologie et Santé

Rédigé par : **M'hachi Maryem**

Encadrée par :

- **Mr. MASRAR AZLARAB** : Chef du laboratoire central d'hématologie du CHIS
- **Mr. TAHRI JOUTI MOHAMMED ALI** : P .E.S à la FSTF

Soutenu le 12 Juin, Salle B6 devant le jury :

- **Pr EL FARR&ICHA OMAR** (FST Fès)
- **Pr MASRAR AZLARAB** (CHIS Rabat)
- **Pr TAHRI JOUTI MOHAMMED ALI** (FST Fès)



## Remerciements

Avant tous, mes souhaits les plus chères seront d'exprimer mes gratitudee au corps professoral et administratif de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour leur formation et encadrement durant toute la période de ma Licence Science et Technique.

Je tiens à remercier au premier lieu , **Pr AZLARAB MASRAR**, chef de service du laboratoire central d'hématologie, Hôpital Ibn Sina-Rabat, de m'accepter comme stagiaire au sein de son équipe et de bien vouloir accorder le temps, malgré son programme chargé, à fin d'apporter des réponses à mes questions, tant professionnelles, que d'ordre plus général, et dont le savoir pratique m'a permis d'approfondir mes connaissances concernant le fonctionnement du laboratoire.

Je remercie également mon encadrant pédagogique **Pr TAHRI JOUTI MOHAMMED**, qui, en tant que professeur, a bien voulu accepter de suivre mon travail, me diriger, à fin que je puisse mener mon projet à terme.

Mes sincères remerciements et gratitudee vont au membre du Jury **Pr EL FARRICHA OMAR**, qui a bien voulu de m'honorer par sa présence.

# Sommaire

Introduction .....	5
Présentation du centre hospitalier Ibn Sina (CHIS) .....	6
Objectif du stage.....	8
Partie I : la coloration des frottis sanguins.....	9
✓ Réalisation manuelle d'un frottis sanguin.....	10
✓ la coloration du frottis sanguin.....	12
❖ Coloration de Wright.....	12
❖ Coloration de Wright-Giemsa.....	14
❖ La coloration au May-Grunwald Giemsa.....	16
Partie II : les automates.....	19
✓ Matériels et méthodes utilisés.....	20
❖ Les automates du laboratoire d'Hématologie.....	20
❖ L'automate de coloration : Sysmex sp-1000i.....	22
❖ L'automate de coloration : Cell-DYN-Sys™ .....	24
❖ Lecture des frottis sanguins.....	25
❖ Valeurs physiologiques.....	28
✓ Résultats et discussions.....	32
• Résultats.....	33
• Discussion.....	37
Conclusion.....	43
Bibliographie.....	45

## **Introduction**

L'hématologie est la branche de la médecine qui traite le sang et ses pathologies. Elle s'intéresse à l'étude des cellules sanguines ou éléments figurés du sang qui ont un rôle dans l'oxygénation, l'immunité et la coagulation. Ces études sont réalisées par des techniques selon des règles et des normes de qualité.

Ces règles normatives en hématologie ont été conçus dans le but de maintenir et d'améliorer la qualité globale des services offerts. L'objectif final consiste à promouvoir l'atteinte d'un degré optimal d'excellence dans le cadre des services rendus aux patients.

Cette qualité de service nécessite une révolution technique pour faire face aux besoins de la santé publique en ce qui concerne l'hématologie, d'où l'automatisation des techniques d'analyse, dont fait partie la coloration des frottis sanguins qui constitue une technique majeur de la pratique hématologique.

C'est en tenant compte de tous ces éléments et en conformité avec les pratiques généralement reconnues en hématologie que j'aborde et décrit la révolution qu'a reconnu la technique de la coloration des frottis sanguins.

# **Présentation du centre hospitalier Ibn Sina**

## ✓ *La direction du CH Ibn Sina :*

La Direction du CHIS assure la coordination et la supervision des activités des dix établissements hospitaliers composant le centre et comprend :

- Un Directeur Général
- Un Secrétaire Général
- 6 Divisions et 30 services administratifs

## ✓ *Organes :*

### ❖ Organes décisionnels :

- conseil d'Administration;
- Conseil de Gestion.

### ❖ Organes de gestion :

- Commissions Médicales Consultatives (CMC);
- Comité Consultatif et de Suivi (CCS);
- Commissions Paritaires;
- Comités spécialisés.

❖ Organigramme :



## **Objectif du stage**

Il va sans dire que le stage est une activité pédagogique qui nous permettra de développer de nombreuses habiletés nouvelles, non seulement du point de vue de technique spécifique, mais aussi dans la perspective de notre développement personnel, que ce soit au plan des comportements, des valeurs ou de la personnalité.

Les stages visent principalement à sensibiliser les stagiaires à la pratique de la biologie dans un établissement de santé ou en un lieu agréé par la faculté des Sciences et techniques de Fès. Il a pour objectifs de permettre aux stagiaires :

- ✓ D'appliquer les connaissances acquises à l'université.
- ✓ D'appliquer dans des situations concrètes les lois, règlements et normes régissant la profession.
- ✓ De développer une perspective multidisciplinaire.

Le stage au sein d'un laboratoire d'analyse médicale spécialité hématologie permet de voir les différentes pratiques de cette discipline à partir de la phase prés analytique jusqu'à la validation du résultat.

Par rapport au sujet qui m'a été désigné par le chef du laboratoire j'ai appris à utiliser la coloration automatisé et son apport dans l'hémogramme. Le stage permet de récolter le maximum d'information concernant les automates de la coloration leurs protocol de travail, les réactifs en question et les besoins des machines (maintenance, changement de réactifs ...). Différents automates sont mises en place pour cette pratique autrefois réalisée manuellement.



# **Partie I : la coloration des frottis sanguins**

## ✓ Réalisation manuelle d'un frottis sanguin

### ❖ Définitions

Un frottis est un étalement de cellules sur une lame de verre observable au microscope (ex : frottis cervico-vaginal, frottis sanguin).

Un frottis est une technique de préparation et non son analyse.

Un frottis sanguin permet de réaliser un hémogramme.

### ❖ Principe

La réalisation d'un frottis sanguin consiste à obtenir, sur une lame de verre, une couche unicellulaire d'éléments figurés du sang répartis sur tout le frottis et fixés dans l'aspect le plus proche de l'état physiologique.

### ❖ Matériel

La réalisation d'un frottis sanguin nécessite :

- Une lame de verre propre, dégraissée et sèche
- Une lamelle d'étirement : lamelle épaisse, plus étroite que les lames, à bords lisses
- Un tube contenant du sang capillaire ou veineux prélevé sur EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) sec
- Un capillaire d'hématocrite ou une pipette
- Une paire de gants pour risque biologique
- Un conteneur pour DASRI (déchets d'activité de soins à risques infectieux)

### ❖ Protocol

Le protocole vise l'obtention d'un frottis sanguin uniforme permettant la visualisation des éléments figurés du sang, par des étapes et techniques bien précises :

- Préparer le matériel nécessaire : lames dégraissées référencées, pastette, spatule, gants, sang, conteneur pour déchets contaminés.
- Prélever le sang à l'aide de la pastette après l'avoir homogénéisé.  
Déposer une petite goutte à l'une des extrémités de la lame.
- Positionner la spatule de façon à prendre la totalité de la goutte.  
La laisser se répartir de façon homogène le long du biseau.
- Appliquer un mouvement de translation horizontale en maintenant la spatule d'un angle de 45° environ sans appuyer tout au long de la lame.
- Sécher par agitation pour fixer temporairement les cellules.  
Éliminer les déchets contaminés.

❖ Etalements (laboratoire central d'hématologie, Hôpital Ibn Sina-Rabat)

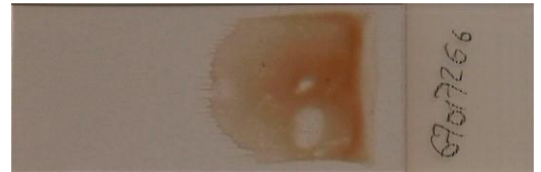
○ Critères d'un bon frottis

- ❖ De bonne taille ( $\frac{1}{2}$  à  $\frac{3}{4}$  de la lame)
- ❖ De bonne densité
- ❖ Goutte étalée en entier
- ❖ Distant des bords de la lame donc accessible en tout point à l'observation microscopique



○ Causes d'erreurs

- ❖ Lames mal dégraissées génère des trous.
- ❖ Lames sales, poussiéreuses génère des traînées.



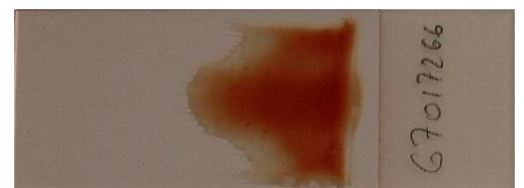
- ❖ Irrégularité du mouvement donne des stries



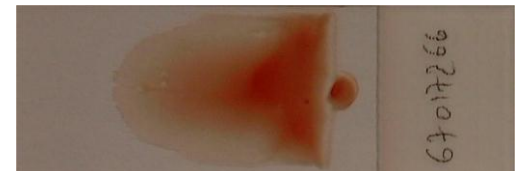
- ❖ Angle trop aigu abouti à un frottis trop fin et/ou trop long avec franges.



- ❖ Angle trop obtus : le frottis est trop épais et/ou trop court



- ❖ Goutte non étalée en entier donne un frottis non représentatif du sang



- ❖ Arrêt du mouvement avant épuisement du sang aboutit à une barre épaisse en bout de frottis



### ✓ Coloration d'un frottis sanguin

Les colorants utilisés doivent être de fabrication récente, conservés en récipient étanche, à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur. Ils seront éventuellement filtrés avant emploi. L'utilisation de l'eau neutralisée ou tamponnée est préférable. Les frottis sanguins sont habituellement colorés par les colorations de Wright et May-Grunwald Giemsa ou même Wright-Giemsa.

#### ❖ Coloration de Wright :

##### ○ Principe

Très répandu aux Etats Unis, la coloration de Wright permet la réalisation de formule sanguine et médullaire. Le colorant de Wright est un mélange de Bleu de méthylène, d'éosine et d'azur de méthylène. Il fixe le frottis par son alcool méthylique et comme tous les colorants neutres en solution alcoolique, il ne libère son activité colorant qu'après additions d'eau tamponnée. (IVD, Dispositif médical de diagnostic in vitro)

##### ○ Produits nécessaires à la coloration

Colorant de Wright en solution : modifié à 0.3% p/v, tamponnée à un pH=6.8 dans du méthanol.

Tampon en solution pour Wright : un mélange de phosphate et de sodium et de phosphate de potassium 0.0083M, pH=7.2

##### ○ Mode opératoire

#### **Techniques par recouvrement, temps de réalisation : 9min**

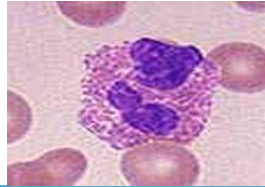

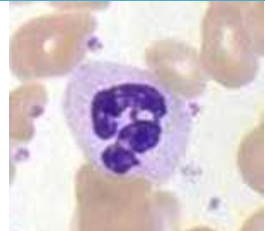
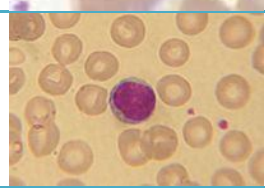
- Couvrir le frottis avec 1mL de colorant de Wright en solution pendant 2min
- Egoutter l'excédent sur papier filtre
- Couvrir le frottis avec le colorant de Wright dilué en solution au 1/5 dans le tampon en solution pour Wright/Leishman pendant 5min
- Rinçage dans deux bains de tampon en solution pour Wright/Leishman. Laisser en contact 1 min pour chaque bain

#### **Technique par Bain, Temps de réalisation : 11 min**

- Bain de colorant de Wright en solution pendant 3min
- Bain de colorant de Wright en solution dilué au 1/6 dans le tampon en solution pour Wright/Leishman pendant 6min

- Rinçage dans deux bains de Tampon en solution pour Wright/Leishman. Laisser en contact 1 min dans chaque bain.

- **Résultats**

Type cellulaire	Résultat de la coloration
<b>Noyaux/ chromatine</b>	<b>Rose-violet</b>
<b>Granulocytes</b>	Granulations éosinophiles : Rouge orangé 
	Granulations basophiles : violet foncé 
	Granulation neutrophiles : violet-rose 
<b>Lymphocytes</b>	Cytoplasme : Bleu à bleu-Gris 
<b>Monocytes</b>	Cytoplasme : Bleu à bleu-Gris
<b>Hématies</b>	rougeâtre
<b>Plaquettes</b>	violet pourpre

## ➤ Coloration de Wright-Giemsa

### ○ Principe

La solution de Wright-Giemsa est destinée à être utilisée pour la coloration des frottis de sang ou de moelle osseuse. Les solutions sont destinées à un « usage diagnostique in vitro ».

Le colorant de Wright-Giemsa est un colorant de Romanowsky modifié utilisé pour colorer de manière différentielle les divers éléments cellulaires composant le sang. Lorsque les frottis sanguins sont colorés comme indiqué dans la procédure, le noyau et le cytoplasme des globules blancs prennent une coloration bleue ou rose caractéristique. L'association d'éosine purifiée et de thiazine dans le produit élimine toute coloration non systématique et donne une réponse chromogène reproductible d'un lot à l'autre. (Brown AB, Lea & Febiger. 1993)

### ○ Réactifs

#### **COLORANT DE WRIGHT-GIEMSA, MODIFIÉ :**

Colorant de Wright-Giemsa, modifié, à 0,4 % p/v, tamponné à un pH de 6,8, dans du méthanol.

#### **MATÉRIEL SPÉCIFIQUE REQUIS MAIS NON FOURNI :**

Tampon Phosphate, Un mélange de phosphate de sodium et de phosphate de potassium à 0,0083 mol/l, pH 7,2. Méthanol, sans acétone, Microscope / Lames / Lamelles de protection

#### **CONSERVATION ET STABILITÉ :**

Conserver les solutions de Wright-Giemsa à température ambiante (18–26°C). L'étiquette du réactif porte une date de péremption. Conserver le tampon phosphate et le méthanol à température ambiante (18–26°C).

Conserver la solution de tampon phosphate à une température comprise entre 2 et 8°C.

Altération : Éliminer la solution du colorant de Wright-Giemsa en cas de formation d'un précipité ou d'apparition d'un artéfact d'eau dans les globules rouges. Éliminer la solution de phosphate en cas de turbidité ou d'observation d'une prolifération bactérienne. (Brown AB, Lea & Febiger. 1993)

## PRÉPARATION :

La solution de Wright-Giemsa est prête à l'emploi. Le tampon phosphate doit être préparé en diluant 1 flacon de tampon dans 3,8 litres d'eau déionisée. Bien mélanger pour dissoudre. Le méthanol est prêt à l'emploi.

### ○ Protocole

#### ▪ Méthode de trempage (rapide)

Placer environ 50 ml de colorant de Wright-Giemsa dans une jarre de Coplin. Remplir une autre jarre de Coplin d'eau ou de tampon phosphate. Placer le frottis sanguin complètement sec, le bord frangé vers le BAS, dans le colorant de Wright-Giemsa pendant environ 30 secondes.

- ❖ REMARQUE : Un Trempage rapide de 5 à 10 secondes peut réduire les artéfacts d'eau sur les frottis qui ne sont pas complètement secs.

Retirer la lame du colorant et la placer dans de l'eau déionisée, ou dans le tampon phosphate, pH 6,8–7,2, le bord frangé vers le BAS, pendant 1 à 10 minutes environ.

- ❖ NE PAS AGITER LA LAME PENDANT QU'ELLE SE TROUVE DANS L'EAU DÉIONISÉE.

Rincer rapidement sous de l'eau déionisée et laisser sécher complètement la lame à l'air libre avant de l'examiner.

#### ▪ Méthode de coloration horizontale

Placer le frottis sanguin complètement sec sur un support pour coloration approprié. Plonger la lame dans 1 à 2 ml de colorant de Wright-Giemsa.

Au bout d'1 minute, ajouter un volume égal d'eau déionisée ou de tampon phosphate, pH 6,8–7,2, et bien mélanger en soufflant doucement sur la lame.

Au bout d'1 à 3 minutes, bien rincer à l'aide de l'eau déionisée et laisser sécher à l'air libre

## ○ **Résultats**

- Les noyaux présentent diverses nuances de violet. La coloration cytoplasmique présente diverses colorations de bleu à rose clair.
- De fins granules rougeâtres à lilas peuvent être présents dans le cytoplasme de certains types de cellules.
- Le cytoplasme des basophiles présente des granules bleu foncé à noir.
- Le cytoplasme des éosinophiles présente des granules orange.
- Les globules rouges doivent être de couleur rose à orange.

## ➤ **La coloration au May-Grunwald Giemsa**

### ○ **Principe**

La coloration selon Pappenheim permet de réaliser la formule sanguine et médullaire. Elle associe deux colorants : le May-Grünwald et Giemsa

Ce sont des mélanges neutres aux propriétés bien distinctes. Ils ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent de façon sélective qu'au moment de leur libération en solution aqueuse tamponnée. Cette libération provoque la précipitation des colorants neutres.

Le May-Grunwald colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes.

Le Giemsa colore le cytoplasme des monocytes, des lymphocytes et la chromatine des noyaux.(Duhamel G, Duhamel E ; 1989)

### ○ **Produits nécessaires à la coloration**

- May-Grunwald en solution : Bleu de méthylène éosine, solution selon May Grünwald ou Jenner. Coloration de May Grünwald Giemsa Standard.
- Colorant de Giemsa R en solution : Giemsa R (rapide), Solution pour les frottis secs et les gouttes épaisses. Coloration de May Grünwald Giemsa Standard.
- Colorant Giemsa L en solution : Giemsa L (lent), Solution pour les frottis humides et les coupes. Coloration de May Grünwald Giemsa Standard.
- Tampon pH=6.8 en solution pour hématologie
- Tampon pH=7.0 en solution pour hématologie
- Tampon pH=7.2 en solution pour hématologie



- **Mode opératoire**


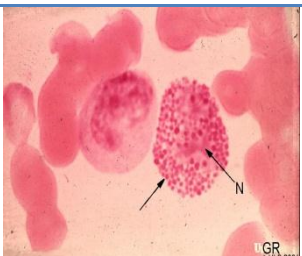
**Technique de coloration par recouvrement, temps de réalisation : 14 min**


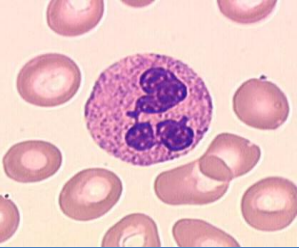
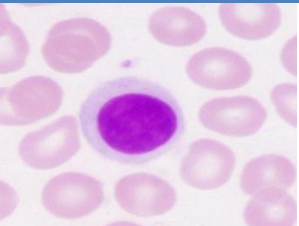
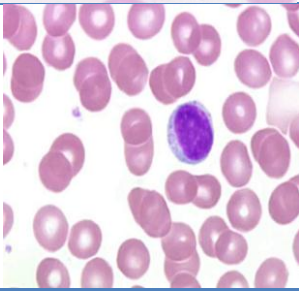
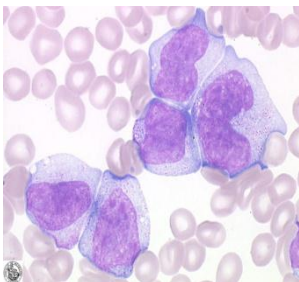
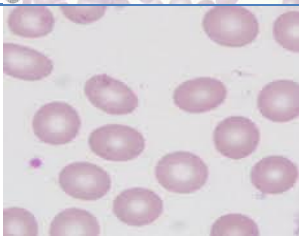
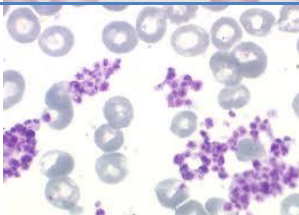
- Couvrir le frottis avec 1mL de May-Grunwald pur pendant 3min
- Ajouter avec précaution 1mL de tampon en solution pour Hématologie et réaliser le mélange sans débordement. Laisser le mélange au contact 1min
- Rejeter l'excès de colorant pour égoutter ou rinçage rapide
- Couvrir le frottis avec le colorant de Giemsa R dilué au 1/30 dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10min
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 secondes (Ecole national de chimie ; mars 1980)

**Technique de coloration par bain, Temps de réalisation : 14min**

- Bain de May-Grunwald pur pendant 3min
- Bain de Tampon en solution pour Hématologie pendant une minute
- Bain de colorant de Giemsa R dilué au 1/20 dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10min
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 secondes

- **Résultats**

Type de cellule	Résultat de la coloration	
<b>Noyaux / Chromatine :</b>	pourpre +/- dense	
<b>Granulocytes</b>	Granulation éosinophile : rose orangé	

	Granulations basophiles : bleu foncé	
	Granulations neutrophiles : rose violet +/- intense	
<b>Lymphocytes</b>	Cytoplasme sans ARN : Rose violacé léger	
	Cytoplasme avec ARN : bleu franc	
<b>Monocytes</b>	Cytoplasme : bleu violacé	
<b>Hématies</b>	beige-gris à rose-beige (Selon le choix du tampon)	
<b>Plaquettes</b>	Granulomère : rouge violacé	

## **Partie II : les automates**

## ➤ Les automates du laboratoire d'Hématologie

### ❖ Automate : Sysmex XE 5000

#### ○ Description

Sysmex utilise la puissance des technologies de la cytométrie de flux fluorescente 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 cytométrie de flux fluorescente de Sysmex offre la sensibilité nécessaire pour mesurer et pour différencier les différents types de cellules présentes dans des échantillons de sang entier et de liquides organiques. La technologie fluorescente et la focalisation hydrodynamique permettent au XE-5000 de classer de façon constante les populations normales de globules blancs, de globules rouges et de plaquettes par rapport aux populations anormales, diminuant ainsi le nombre d'interventions manuelles requises. ( Sysmex In)



#### ○ Paramètres Cliniques Rapportables et Pertinents

- **NRBC** – La numération fluorescente de globules rouges nucléés avec une sensibilité et une spécificité excellentes
- **PLT-O** – La numération optique fluorescente de plaquettes et une numération de l'impédance plaquettaire traditionnelle pour améliorer la précision des numérations plaquettaires très élevées et très faibles
- **Retic** – La numération de réticulocytes pour diminuer l'utilisation de méthodes manuelles de confirmation et leurs erreurs inhérentes
- **RET-He**– L'analyse du niveau de l'hémoglobine dans les réticulocytes mesure l'absorption du fer par les globules rouges pour aider le médecin à évaluer l'anémie et de la gérer (ex., anémie ferriprive fonctionnelle)
- **IPF** – La fraction de plaquettes immatures (mesure des plaquettes réticulées) pour aider le médecin à contrôler l'activité thrombopoïétique de la moelle osseuse
- **HPC** – La numération de progéniteurs hématopoïétiques afin d'aider le médecin à dépister la présence de progéniteurs hématopoïétiques dans des échantillons de sang périphérique et de sang ombilical.

## ○ La Productivité

Le système permet un débit de traitement de jusqu'à 150 échantillons à l'heure, ce qui produit de façon rapide des résultats de haute qualité que les médecins peuvent utiliser pour prendre des décisions sur le diagnostic et le traitement des patients.

### ❖ Automate : Système Sysmex CS-5100

## ○ Description

Le système Sysmex® CS-5100\* est un analyseur de coagulation conçu pour le traitement des volumes élevés d'échantillons. Il est doté d'une lecture multi-longueurs d'onde et de la vérification de l'intégrité de l'échantillon PSI™ (Preanalytical Sample Integrity) qui permettent d'obtenir des résultats fiables dès le premier passage en identifiant et en traçant les échantillons « non-conformes » pendant la phase pré-analytique.



- Détection des plasmas hémolysés, ictériques et lipémiques (HIL) par lecture pré-analytique des échantillons à 3 longueurs d'onde : 405 nm, 575 nm et 660 nm.
- Vérification du niveau de remplissage du tube primaire afin d'identifier les erreurs potentielles dues à un prélèvement incorrectement rempli (limites acceptable Signalement des tubes non conforme paramétrables par l'utilisateur).
- Lecture simultanée à plusieurs longueurs sur une même cuve réactionnelle pour les tests chromométriques : 340 nm, 405 nm, 575 nm, 660 nm, et 800 nm.

## ○ Fonctionnalités et avantages

- Le large spectre de longueurs d'ondes optiques permet la consolidation des testes :
  - ✓ Réalisation de test de coagulation utilisant 4 principes de mesure différents sur une seule plateforme
  - ✓ Possibilité de réaliser des tests chromométriques, chromogéniques, immunoturbidimétries et d'agglutination de l'ensemble des puits de mesure
  - ✓ Réduction des effets des substances interférant sur le spectre d'absorption optique par la sélection automatique de la longueur d'onde adapté
  - ✓ Des algorithmes complexes enregistrent, surveillent et vérifient la cinétique de la réaction pour préserver la qualité et la précision des résultats

- Les fonctionnalités avancées de la station de travail améliorent la productivité :
  - ✓ Cadence élevée : jusqu'à 400 tests TP/TCA par heure
  - ✓ Capacité à bord maximal de 3000 tests et de réactifs
  - ✓ Plus de 11h d'autonomie de fonctionnement
  - ✓ Chargement continu des échantillons, des réactifs et des consommables
  - ✓ Les tubes primaires, pédiatriques et les godets peuvent être chargés sur le même rack, et les échantillons urgents peuvent être chargés et traités en priorité à tout moment
  
- L'interface utilisateur intuitive offre un environnement dynamique et personnalisable :
  - ✓ Logiciel d'exploitation partagé avec les autres Sysmex CS
  - ✓ Traçabilité intégralement automatisée de la maintenance avec liste de points à vérifier prête à l'inspection
  - ✓ Support logiciel dédié à la gestion des erreurs et au dépannage proposant des actions correctives
  - ✓ Stockage des données selon la configuration établie par l'utilisateur enregistrant jusqu'à 60 résultats par échantillon, proposant une traçabilité détaillée des résultats

### ➤ **Automates de la coloration : Sysmex Sp 1000i**

#### ○ Description :

Unité de préparation et de coloration de lame perfectionnées.

Le Sp 1000i est la troisième génération de produits de préparation et de coloration de lame intégrés éprouvés, développés, fabriqués et soutenus par Sysmex. Dans le cadre de l'exploitation de routine, le Sp 1000i offre une préparation automatisée rapide des frottis de sang périphérique pour aider les laboratoires à satisfaire et standardiser le délai d'exécution de réexamen de frottis.



#### ○ Caractéristiques et avantages

La préparation rapide et constante des frottis sanguins. Le SP-1000i offre un moyen rapide et constant pour préparer les frottis de sang périphérique au laboratoire.

Le système contribue à réaliser des gains de productivité en tant que partie d'un système ALPHA ou d'un système HST intégré.

- Il améliore et standardise le temps nécessaire pour préparer le frottis :
  - Une préparation rapide du frottis avec une préparation et une coloration de lame, première entrée première sortie.
  - Il aspire uniquement le sang des échantillons qui nécessite un frottis.
    - Une préparation de lame réflexive : il applique les critères définis par le laboratoire pour préparer le frottis.
    - Un faible volume d'échantillon nécessaire : le mode intégré de microéchantillon aspire 60µL de volume d'échantillon pour préparer et colorer de frottis sanguins.
    - Il produit de manière constante de frottis de qualité :
  - Il utilise un processus unique qui combine la cassette de lame avec la coloration sans bain.
  - Il ajuste automatiquement l'angle, la vitesse et le volume de sang en fonction de la valeur HT de l'échantillon.
- Exploitation flexible :
  - Il a la capacité de colorer des frottis préétablis (ex : échantillons de liquides biologiques ou de moelle osseuse).
  - Il peut produire automatiquement de multiples frottis.
- Fonctionnement :

Préparation de la lame :

- Utilise une lame d'étalement robuste et auto-nettoyante pour préparer les frottis sanguins (Sp-slide)
- Imprime directement sur la lame porte-objets des informations selon les options définies par le laboratoire qui peuvent comporter :
  - Une ou plusieurs étiquettes de code à barre uni ou bidimensionnelle.
  - Le Nom du patient
  - Le numéro de code à barre
  - Le résultat spécifique à l'instrument
- Sèche automatiquement les frottis avant coloration
- Attribue les lames dans des cassettes individuelles

Coloration :

- Des périodes de coloration modifiables pour permettre au laboratoire d'obtenir des frottis colorés optimaux.
- Le recyclage du colorant aide à réduire le gaspillage de colorant.
- La conception unique et réutilisable des cassettes empêche l'évaporation du colorant et permet une coloration régulière. Sèchent automatiquement les frottis colorés avant qu'ils n'arrivent à la zone de sortie.

## ❖ Automate de coloration : Cell-DYN-Sys™

### ○ Description

Le CELL-DYN SMS est un instrument autonome qui automatise la préparation du frottis sanguin et de la coloration. L'instrument est conçu pour une utilisation diagnostique in vitro dans les laboratoires cliniques. Le CELL-DYN SMS produit constamment des frottis sanguins de haute qualité. Paramètres strictes ont été optimisés, assurant films sanguins



compatibles et de réduire la nécessité de procéder à des ajustements pour les échantillons avec des valeurs significativement élevées ou basses en hémocrite. Dans le mode de prélèvement fermé, les mélanges auto charge 50 positions, identifie l'échantillon, et aspire seulement 200 ul. Seulement 30 ul de l'échantillon est nécessaire dans le mode d'échantillonnage ouverte. Chaque diapositive est identifiée positivement avec plusieurs lignes de la démographie définissables par l'utilisateur imprimé directement sur la lame. Un mode « Stain only » est disponible. Pour améliorer la productivité, amélioration de la sécurité de l'opérateur, et veiller à la cohérence.( Abbott health care)

### ○ Fonctionnement :

La préparation de la lame est réalisée par une lame robuste résistante et auto nettoyante par trempage dans un bain de méthanol alcoolique et une ventilation séchante. L'automate détecte et lit le code à barre sur le tube, ainsi imprime les renseignements du patient sur la lame à colorer.

Les lames étalés sont séchées automatiquement et attribuées dans des back pour la coloration en technique de bain ou trempage.

La coloration des lames commence par une désinfection à l'alcool pour une minute, suivit par un trempage dans le May-Grünwald dilué dans l'eau du robinet au 1/6, les lames y restent pour 10min, le May-Grunwald permet la fixation des cellules par sa composition en bleu de méthylène et éosine, le rinçage des lames après chaque bain est essentielle pour l'élimination des résidus de chaque phase. Cette fixation permet au Giemsa dilué au 1/10 dans de l'eau du robinet une meilleure coloration des cellules sanguines, le trempage au Giemsa dure 20min suivit d'un rinçage à l'eau du robinet.

Les lames sont séchées automatiquement et prêtes pour la lecture.



## ❖ Vitesse de sédimentation :

La vitesse de sédimentation (*ESR* « *Erythrocyte Sedimentation Rate* » en anglais) est un test qui mesure indirectement l'étendue d'une inflammation dans le corps humain.

Le montage de cette analyse effectuée au laboratoire central d'hématologie, Hôpital ibn Sina –Rabat, est un montage réalisé manuellement qui nécessite un tube de prélèvement (bouchant noir) contenant un échantillon sanguin sur EDTA comme anticoagulant et une pipette spécifique pour la cette analyse.

On homogénéise le tube de sang le plus possible par un mouvement constant et rapide de la main à gauche et à droite pour une trentaine de secondes, à l'ouverture il faut bien faire attention au bouchant, car a force d'agiter il peut avoir une pression à l'intérieur du tube qui mène le sang à sortir du tube avec force au moment de l'ouverture du tube. Dès l'ouverture du tube on place la pipette graduée ou on va lire le résultat de la VS au bout d'une heure marquer par une minuterie calibrée et spécifique aux laboratoires.

Les résultats obtenus au bout d'une heure sont enregistré sur le bond du patient puis validé au système.

### ➤ Lecture du frottis sanguin

#### ❖ Examens classiques d'un frottis sanguin

- Observation microscopique avant coloration

On vérifie après l'étalement la qualité du frottis à l'œil nu, l'aspect uniforme du sang sur la lame. La présence d'une agglutination macroscopique (sang en « amas pointillé) peut correspondre à une auto agglutination ou à la présence de rouleaux érythrocytaires. Pour distinguer ces deux phénomènes on dilue le sang au deuxième avec une solution de chlorure de sodium, ce qui provoque la disparition de l'agglutination dans le cas d'une rouleaux-formation, leur présence peut aussi être due au séchage trop lent.

- Observation au microscope après coloration

Le frottis est d'abord examiner à faible grossissement (X100 ou X 200) dans sa totalité pour vérifier la qualité de l'étalement, de la coloration et l'absence d'éléments volumineux anormaux. On évalue ensuite la densité et la distribution des différentes catégories cellulaires. La distribution des globules rouges pourra révéler des phénomènes d'agglutination éventuellement déjà suspecter macroscopiquement. On estime ensuite au grossissement X400, la richesse du frottis en leucocytes et en plaquettes en tenant compte de la répartition des cellules. En fin on détermine la zone de lecture ou se réalise le reste de l'examen. (Thèse : 2006 – TOU3 – 4079)

Une étude de la morphologie des éléments figurés du sang doit être réalisée à fort grossissement. La formule leucocytaire classique est établie en comptant au moins une centaine de leucocytes lors du balayage de la zone de lecture.

#### ❖ Zone de lecture :

Un étalement sanguin sur lame de verre correctement réalisé est subdivisé en plusieurs parties :

- La tête est l'extrémité au niveau de la goutte de sang.
- La queue est l'extrémité opposée généralement en pointe, présentant des barbes visibles à l'œil nu. C'est une zone très mince où les cellules se regroupent en colonnes, les globules rouges ne présentent plus de zone centrale claire, et les globules blancs nombreux, sont souvent détériorés.
- Le corps fait suite à la tête. C'est une zone épaisse qui contient de nombreux globules rouges, ces derniers sont distribués de façon hétérogène, se superposant et forme souvent des rouleaux, les leucocytes sont de petite taille et généralement fortement colorés.
- Une zone dite « monocouche » est située entre le corps et la queue du frottis. Les cellules s'y répartissent en une seule couche sur la lame, les globules rouges ont une distribution uniforme, ne se chevauchent pas et présente une distorsion minimale.

C'est une zone ni trop épaisse ni trop mince qui permet une observation plus facile moins sujette à des erreurs d'interprétation due à des superpositions ou des artefacts. Les cellules blanches sanguines y sont aplaties et expose ainsi une grande surface cellulaire pour une évaluation optimale des détails cytoplasmiques et nucléaires.

Cependant les délimitations de cette région et sa taille sont variables en fonction de la qualité de l'étalement, précisant qu'elle doit représenter 25% de la surface totale du frottis et elle serait deux fois plus large pour des frottis réalisés par des instruments automatisés. Par ailleurs, à l'intérieur de cette zone, les avis divergent sur la surface à balayer et notamment sur la prise en compte ou pas des cotés de l'étalement. (Thèse : 2006 – TOU3 – 4079)

#### ❖ Grossissement :

On utilise un microscope optique à platine mobile permettant de déplacement de la lame sous l'objectif. Le condensateur est placé en position haute de façon à concentrer la lumière du champ observé, l'intensité de la lumière étant ajustée selon l'objectif utilisé. Le frottis sanguin est d'abord parcouru dans sa totalité au faible grossissement (X100), pour s'assurer de la qualité de l'étalement, la coloration, et pour juger de la distribution des cellules. En général on cherche également la

présence d'agglutination de plaquettes ou de parasites sanguine dans les franges, de rouleaux de globules rouges en dehors du corps du frottis, ceci entrant dans l'examen systématique du frottis sanguin, en fin on repère la zone de lecture ou les globules rouges sont voisins sans cependant se toucher. Le grossissement X400 est utilisé pour évaluer la forme et la taille des globules rouges.

Ce grossissement est insuffisant pour apprécier les détails morphologiques des cellules et par conséquent, la formule leucocytaire doit s'établir par un fort grossissement (X1000), une goutte de l'huile à immersion est pour ce fait déposée sur la lame, à l'endroit du frottis précédemment repéré comme la zone de lecture.

#### ❖ Nombre de cellules nécessaire pour le comptage :

Le NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) fournissant les méthodes standards à suivre dans les laboratoires aux Etats-Unis, recommande de compter et classer systématiquement 200 cellules. Ce pendant depuis l'apparition de typage automatisé des 5 types leucocytaires dans le milieu des années 70, l'intérêt trouvé dans la numération manuelle à changer, du moins en médecine humaine. Les appareils comptent des milliers de cellules et donc fournissent une meilleure précision pour le comptage différentiel que la méthode manuelle. Celle-ci tend à devenir un simple outil de validation des résultats anormaux fournis par les automates. (Thèse : 2006 – TOU3 – 4079)

#### ❖ Méthodes de déplacement au dessus de la lame :

Toutes les méthodes ont pour objectif commun d'éviter de repasser au même endroit et de compter deux fois la même cellule, on distingue deux méthodes les plus utilisés :

- La méthode en ligne droit : consiste à parcourir des champs consécutifs selon une ligne droite à environ 5mm du bord horizontal, en partant près de la queue et en s'éloignant.
- La méthode des créneaux : qui consiste à parcourir 3 champs le long du bord horizontal suivis de 2 champs allant vers le centre puis 2 champs horizontaux et 2 champs verticaux remontant vers le bord et ainsi de suite. Ceci limitant le comptage des cellules dans une zone de 1mm au dessous du bord du frottis.

#### ❖ Intervalles de références

Pour tous les laboratoires, le technicien doit comparer le résultat de l'analyse à un intervalle de références. Pour chaque type leucocytaire, celui-ci exprime des valeurs physiologiques d'un sujet en bonne santé. Il est obtenu à partir de l'étude d'un échantillon important d'individus. L'échantillonnage des sujets dans une population saine se base dans la plus part des cas sur l'absence de maladies apparentes dans l'examen clinique, 120 individus doivent être étudiés pour établir un intervalle de référence. (Thèse : 2006 – TOU3 – 4079)

L'intervalle de référence est souvent choisit comme l'intervalle comprenant 95% des résultats. La limite supérieure comme la limite inférieure excluent donc 2.5% des valeurs trouvées chez des sujets en bonne santé. Ainsi en ce qui concerne les appareils de comptage automatisé, les valeurs de références doivent être données par les fabricants. (Thèse : 2006 – TOU3 – 4079)

### ❖ Valeurs physiologiques :

Les valeurs normales varient légèrement d'un laboratoire à un autre. Elles diffèrent également chez l'adulte et chez l'enfant selon son âge, et chez l'homme et la femme. Le tableau ci-dessous indique les valeurs considérées comme normales aux laboratoires au Maroc :

Analyses du : 05/03/2013  
AGE : 30 F

### HEMOGRAMME

NUMERATION GLOBULAIRE		Résultats	V.N. Adulte (Femme)	
Globules blancs en milliers / mm <sup>3</sup>		5.6	4 - 10	
Globules rouges en millions / mm <sup>3</sup>		4.80	4 - 5	
Hémoglobine en g/100 ml		15.1	11.5 - 15	
Hématocrite en %		43.2	37 - 47	
V.G.M. en μ <sup>3</sup>		90	80 - 95	
T.G.M.Hb en pg		31.5	27 - 32	
C.C.M.H. en %		35	30 - 36	
PLAQUETTES en milliers/ mm <sup>3</sup>		187	150 - 400	
FORMULE LEUCOCYTAIRE				
	%	soit par mm <sup>3</sup>	V.N %	soit par mm <sup>3</sup>
P.Neutrophiles	65	3640	50 - 75	2 000 - 7 500
P.Eosinophiles	1	56	1 - 5	40 - 500
P.Basophiles	0	0	0 - 1	0 - 100
Lymphocytes	28	1568	25 - 40	1 000 - 4 000
Monocytes	6	336	0 - 10	100 - 1 000

Figure 1 : Hémogramme normale de sexe féminin

**HEMOGRAMME**

## NUMERATION GLOBULAIRE

	Résultats	V.N. Adulte (Homme)	
Globules blancs en milliers / mm <sup>3</sup>	7.6	4 - 10	Antériorité du :13/03/2013 8.3
Globules rouges en millions / mm <sup>3</sup>	5.33	4.5 - 5.5	Antériorité du :13/03/2013 5.21
Hémoglobine en g/100 ml	14.2	13 - 16	Antériorité du :13/03/2013 14.5
Hématocrite en %	44.2	40 - 54	Antériorité du :13/03/2013 44
V.G.M. en $\mu$ 3	82.9	80 - 95	
T.G.M.Hb en pg	26.6	27 - 32	
C.C.M.H. en %	32.1	30 - 36	
PLAQUETTES en milliers/ mm <sup>3</sup>	266	150 - 400	Antériorité du :13/03/2013 246

## FORMULE LEUCOCYTAIRE

	%	soit par mm <sup>3</sup>	V.N %	soit par mm <sup>3</sup>	%
P.Neutrophiles	44.6	3389.6	50 - 75	2 000 - 7 500	Antériorité du :13/03/2013 41
P.Eosinophiles	1.3	98.8	1 - 5	40 - 500	Antériorité du :13/03/2013 2
P.Basophiles	0.2	15.2	0 - 1	0 - 100	Antériorité du :13/03/2013 0
Lymphocytes	48.2	3663.2	25 - 40	1 000 - 4 000	Antériorité du :13/03/2013 48
Monocytes	5.7	433.2	0 - 10	100 - 1 000	Antériorité du :13/03/2013 9

## VITESSE DE SEDIMENTATION

1ère heure en mm	5	1 - 10	Antériorité du :23/03/2012 9
2ème heure en mm	13	7 - 20	Antériorité du :23/03/2012 27

Figure 2 : Hémogramme Normal de sexe masculin

**HEMOGRAMME**

## NUMERATION GLOBULAIRE

	Résultats	V.N. Adulte (Homme)
Globules blancs en milliers / mm <sup>3</sup>	13.80	4 - 10
Globules rouges en millions / mm <sup>3</sup>	3.57	4.5 - 5.5
Hémoglobine en g/100 ml	9.5	13 - 16
Hématocrite en %	28.6	40 - 54
V.G.M. en $\mu$ 3	80.1	80 - 95
T.G.M.Hb en pg	26.6	27 - 32
C.C.M.H. en %	33.2	30 - 36
PLAQUETTES en milliers/ mm <sup>3</sup>	282	150 - 400

## FORMULE LEUCOCYTAIRE

	%	soit par mm <sup>3</sup>	V.N %	soit par mm <sup>3</sup>
P.Neutrophiles	76.2	10515.6	50 - 75	2 000 - 7 500
P.Eosinophiles	0.1	13.8	1 - 5	40 - 500
P.Basophiles	0.1	13.8	0 - 1	0 - 100
Lymphocytes	10.4	1435.2	25 - 40	1 000 - 4 000
Monocytes	13.2	1821.6	0 - 10	100 - 1 000

Anisocytose  
Anémie

. Figure 3 : Hémogramme Anormal de sexe masculin (Anisocytose et anémie)

## ❖ Variations physiologiques :

Les principaux facteurs susceptibles de modifier les valeurs de l'hémogramme sont le sexe, l'âge, la race, la grossesse, la consommation d'alcool, l'effort physique et l'altitude. D'autres facteurs comme le stress, le cycle menstruel, la contraception orale, l'anxiété, la douleur peuvent modifier les valeurs de l'hémogramme sans qu'elles puissent être considérées comme pathologiques. Ces facteurs doivent être pris en compte par le clinicien lors de l'analyse de l'hémogramme.

Après 60 ans, les mêmes valeurs seuils que chez le sujet plus jeune sont à retenir, les anomalies de l'hémogramme étant à rattacher aux états pathologiques plus fréquents à cet âge ou aux prises médicamenteuses plus fréquentes à cette tranche d'âge.

### ○ Facteurs à l'origine de variations des Globules Rouges

- le sexe : les variations de la numération des GR et du taux d'Hb sont bien établies et à prendre en compte dans l'interprétation clinique. Cette différence entre les 2 sexes apparaît à la puberté. La TCMH et la CCMH sont inférieures chez la femme dès la puberté et le restent toute la vie.
- la race : le taux d'Hb diminue modérément chez les sujets de race noire .En l'absence d'anomalies des constantes érythrocytaires et en l'absence d'anomalies des autres lignées, une diminution de 0,8 à 1 g/dl isolée cliniquement ne doit pas faire conclure à une anémie et entraîner des investigations complémentaires inutiles dans ce contexte.
- l'âge : très augmentés chez le nouveau-né ils diminuent rapidement, les taux les plus faibles se situant entre 1 et 6 mois. Le taux d'Hb augmente jusqu'à la puberté où apparaissent les différences entre les 2 sexes.
- la grossesse : diminution du taux d'Hb qui s'accroît au cours de la grossesse. Ainsi le seuil pour définir une anémie durant la grossesse doit-il être différent.
- la consommation d'alcool : variations modérées avec augmentation modérée du VGM
- l'altitude : une polyglobulie apparaît à une altitude > 3000 à 4000 mètres, situation fréquente au Maroc.

### ○ Facteurs à l'origine des variations des Globules Blancs

L'augmentation ou la diminution de la leucocytose en tant que telle n'a pas d'intérêt clinique nettement identifié; par contre, il est impératif de déterminer aux dépens de quelle catégorie cellulaire s'est développée une hyperleucocytose ou une leucopénie.

Les résultats de la numération des GB sont identiques chez l'adulte homme ou femme.

- âge : pour le petit enfant, la principale différence avec l'adulte est la numération des lymphocytes. Chez l'enfant de moins de 4 ans, les valeurs de la lymphocytose sont plus élevées que chez l'adulte.
- la race : neutropénie ethnique (race noire) à condition que la neutropénie soit  $> 0.5 \times 10^9/l$  et cliniquement isolée.
- la grossesse : hyperleucocytose et polynucléose maximale entre les 30 et 34<sup>èmes</sup> semaines. L'augmentation est modérée, le seuil de  $7 \times 10^9/l$  étant atteint avec quelques cas atteignant  $9 \times 10^9/l$  avec petite myélémie au 3ème trimestre.
- la consommation de tabac : hyperleucocytose avec augmentation de toutes les lignées. Il existe une augmentation d'environ 20% des PN avec une polynucléose dépassant  $7 \times 10^9/l$ . Cette augmentation est proportionnelle au nombre de cigarettes fumées et n'est pas influencée par l'ancienneté du tabagisme. L'augmentation de la lymphocytose se majore avec l'ancienneté du tabagisme.
- les rythmes nycthémeraux : influencent les différents types de leucocytes d'où la notion d'horaire standardisé avec prélèvement « a priori matinal » effort physique : augmentation de la leucocytose ( $9$  à  $12 \times 10^9/l$ ) avec polynucléose et lymphocytose après un effort physique ; un repos de 20 minutes est suffisant pour un retour à la normale d'où la notion de prélèvement « le matin au repos ».
- l'activité digestive augmente la leucocytose avec polynucléose d'où la notion de prélèvement le « matin à jeun ».

- Facteurs à l'origine des variations des plaquettes

Les résultats de la numération des plaquettes sont identiques chez l'adulte homme ou femme.

- la grossesse : diminution très modérée de la numération plaquettaire. Chez une femme dont la numération des plaquettes est à la limite inférieure de la normale avant la grossesse, la grossesse pourra faire atteindre des valeurs de  $100$  à  $120 \times 10^9/l$  faisant parler de « thrombopénie de la grossesse ». Cependant toute thrombopénie au cours de la grossesse devra faire l'objet d'une enquête clinique, d'un contrôle de l'héogramme, d'une analyse du frottis sanguin, de la prise en compte du volume plaquettaire.
- l'altitude : entraîne une thrombocytose à  $3000 - 4000$  mètres, situation fréquente au Maroc.

## **Résultats et Discussions**



- **Résultats :**

Les tableaux ci dessous représentent des résultats au hasard de patients qui ont effectué un hémogramme suivi d'un frottis sanguin dans la période des trois premiers mois de l'année 2013, ainsi que ceux de l'an 2014 projetés sur un échantillon de 120 Patients.

La répartition des résultats selon des tranches d'âges donne des intervalles précis :

- Age : 1 ans < âge < 18 ans : cet intervalle part du statut enfant et mineur au statut adulte.
- Age : 19 ans < âge < 40ans : est un intervalle de jeune âge ne présentant pas un grand nombre d'anomalies, ainsi après l'âge de 40 les sujets risquent différentes modifications des normes d'analyses médicales.
- Age : 41 ans < âge < 90 ans : l'avancement de l'âge donne un avancement dans les anomalies remarquées dans l'hémogramme et le frottis.

Le tranchage par rapport au sexe : permet de donner 3 catégories

- L'enfant ne révèle pas de variations dans les valeurs usuelles entre le féminin et le masculin. Les valeurs de la numération formule sanguine sont inférieurs chez le sexe féminin par rapport au sexe masculin, après la puberté les hormones sexuelles aboutissent à une augmentation dans l'érythropoïèse dans le sexe masculin.

Tableaux de résultats de Frottis sanguins effectués en 2013 :

- Tableau 1 : Résultats de frottis sanguins pour les âges < 18 ans

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguin
11 ans	Féminin	Normal
13 ans	Féminin	Normal
6 ans	Masculin	Normal
3 mois	Nouveau- Né	Microcytose Anémie
11 ans	Féminin	Anisocytose
5 ans	Masculin	Anisocytose Poikilocytose Hypochromie
2 ans	Féminin	Anisocytose Poikilocytose Hypochromie

- Tableau 2 : Résultats de frottis sanguins pour les âges de 19 ans à 40 ans

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguin
24 ans	Masculin	Normal
33 ans	Féminin	Normal
35 ans	Féminin	Normal
28 ans	Féminin	Normal
30 ans	Féminin	Normal
31 ans	Féminin	Normal
19 ans	Féminin	Anisocytose Poikilocytose Hypochromie
35 ans	Féminin	Anisocytose
38ans	Féminin	Normal

- Tableau 3 : Résultats de frottis sanguins pour les âges de 41 ans à 90 ans.

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguins
49 ans	Féminin	Anisocytose
53 ans	Féminin	Anisocytose Poikilocytose Hypochromie
55 ans	Féminin	Normal
46 ans	Féminin	Anisocytose Poikilocytose Hypochromie
66 ans	Féminin	Normal
73 ans	Féminin	Microcytose
53 ans	Féminin	Anisocytose
71 ans	Masculin	Normal
72 ans	Masculin	Normal

Tableaux de résultats de Frottis sanguins effectués en 2014 :

- Tableau 4 : Résultats de frottis sanguins pour les âges < 18 ans

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguins
10 ans	Féminin	Normal
6 ans	Masculin	Normal
6ans	Féminin	Normal
8ans	Féminin	Normal
16ans	Féminin	Normal
17 ans	Féminin	Normal

- Tableau 5 : Résultats de frottis sanguins pour les âges de 19 ans à 40 ans.

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguins
32 ans	Féminin	Normal
19 ans	Féminin	Anisocytose
29 ans	Masculin	Normal
24 ans	Féminin	Normal
34 ans	Masculin	Anisocytose Anémie
24 ans	Féminin	Normal
32 ans	Féminin	Normal
19 ans	Féminin	Normal
34 ans	Féminin	Normal
21 ans	Féminin	Normal

- Tableau 6 : Résultats de frottis sanguins pour les âges de 41 ans à 90 ans.

Age	Sexe	Résultat de frottis sanguins
64 ans	Féminin	Anisocytose Anémie
69 ans	Masculin	Normal
69 ans	Masculin	Normal
62 ans	Masculin	Anisocytose Erythroblastes
66 ans	Féminin	Normal
53 ans	Féminin	Anisocytose
55 ans	Féminin	Anisocytose Microcytose Anémie
53 ans	Féminin	Normal
89 ans	Masculin	Anisocytose Anémie
50 ans	Féminin	Normal

- **Discussion :**

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous montrent une variation du nombre d'anomalies marquées en 2013 par rapport à 2014 tous caractères confondus, chose qui peut être expliquée par quelques propositions :

- **Tableau 7 : Pourcentage d'anomalies tous caractères confondus**

Années	2013	2014
% d'anomalies	18,33%	11,66%

1. Les analyses effectuées au laboratoire d'hématologie concernant l'hémogramme sont sur tout des bilans de routine ou de contrôle ce qui explique la diminution d'anomalies remarquées.
2. La diminution des patients atteints d'anémies entre 2013 et 2014 est due à l'amélioration du régime alimentaire des patients qui réalisent des Numérations formules sanguines de routine.
3. La présence de maladie autre que des anémies demandant une NFS pour bilan ce qui explique la diminution des anomalies sanguines au cours des années.

**Etude statistique des résultats pour un échantillon de 60 patients :**

- **Tableau 8 : Répartition des tranches d'âges selon la période de l'étude**

Années Tranches d'âges	2013		2014	
	Effectif	% des tranches d'âge	effectif	% des tranches d'âge
Age < 18 ans	10	16,66%	7	11,66%
19 ans < âge < 40 ans	19	31,66%	21	35%
41 ans < âge < 90 ans	31	51,66%	32	53,66%

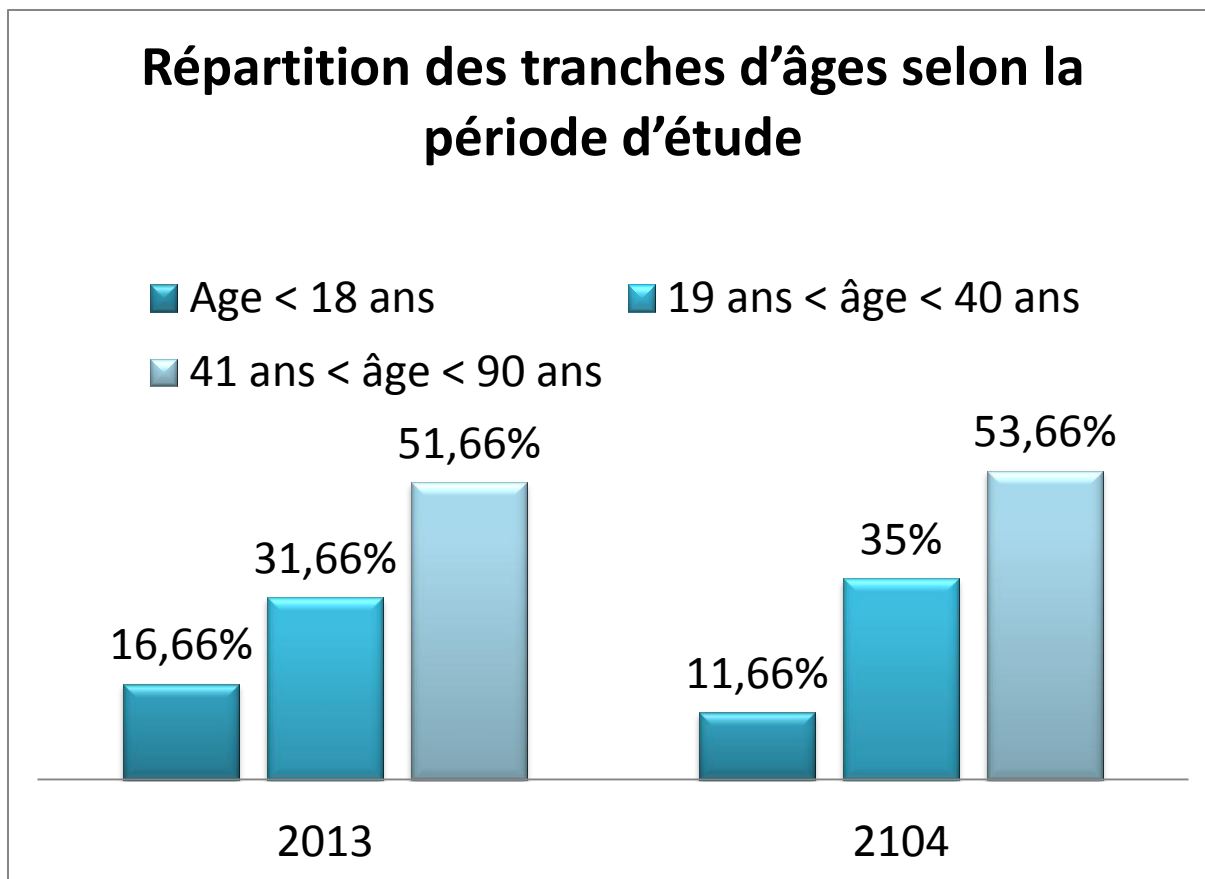


Figure 4 : Histogramme de la répartition des tranches d'âges selon la période de l'étude

■ Tableau 9 : Répartition des sexes selon la période de l'étude

Années \ Sexe	2013		2014	
	Effectif de frottis	% des sexes	Effectif de frottis	% des sexes
Enfant	9	15%	4	6,66%
Féminin	40	66,66%	31	51,66%
Masculin	11	18,66%	25	41,66%

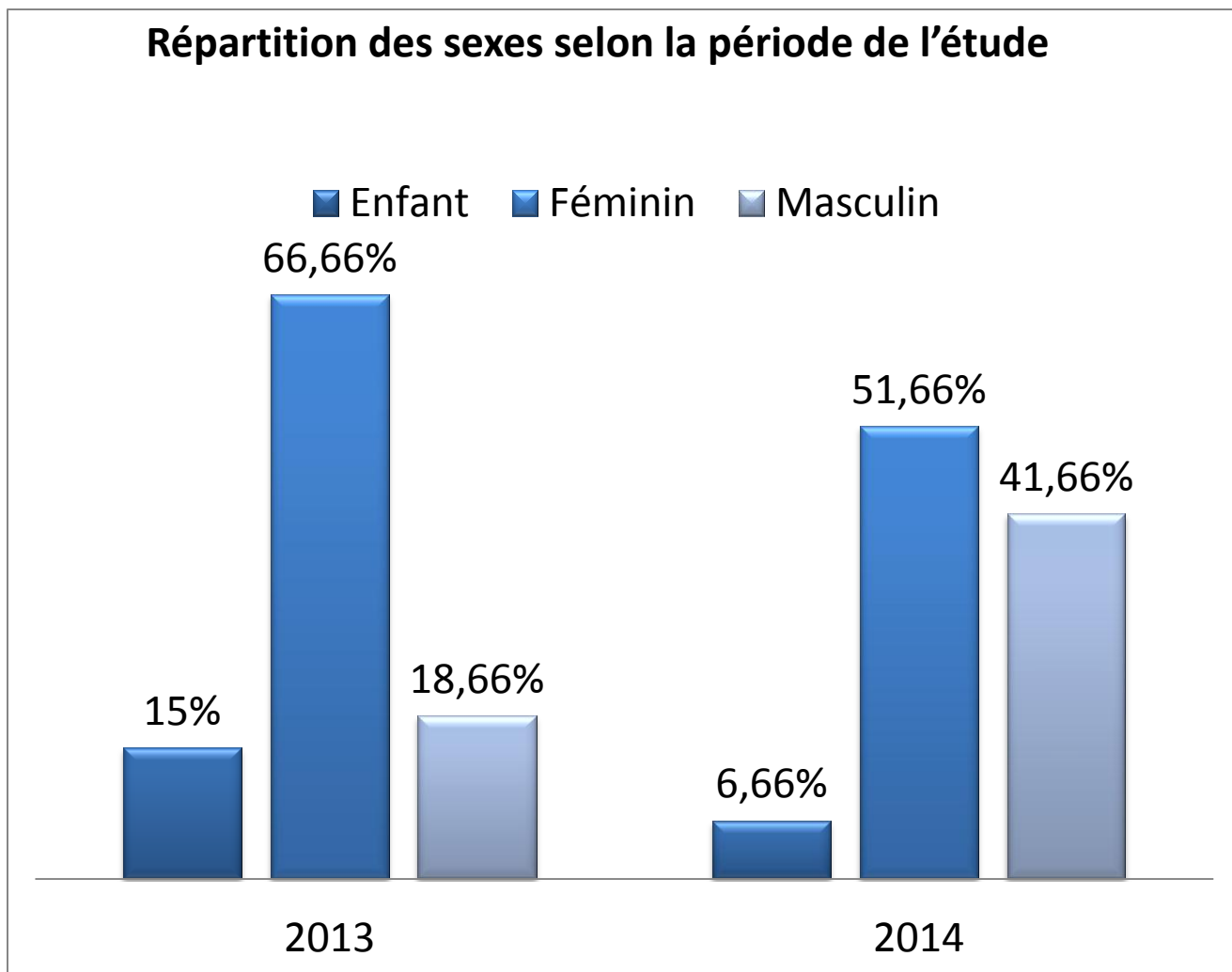


Figure 5 : Histogramme de la répartition des sexes selon la période de l'étude

■ Tableau 10 : Répartition des anomalies selon tranches d'âges :

Tranches d'âge Années	Age < 18 ans		19 ans < âge < 40 ans		41 ans < âge < 90 ans	
	effectif	%	effectif	%	effectif	%
2013	4	36,60%	2	18,20%	5	45,50%
2014	0	0%	2	28,50%	5	71,40%

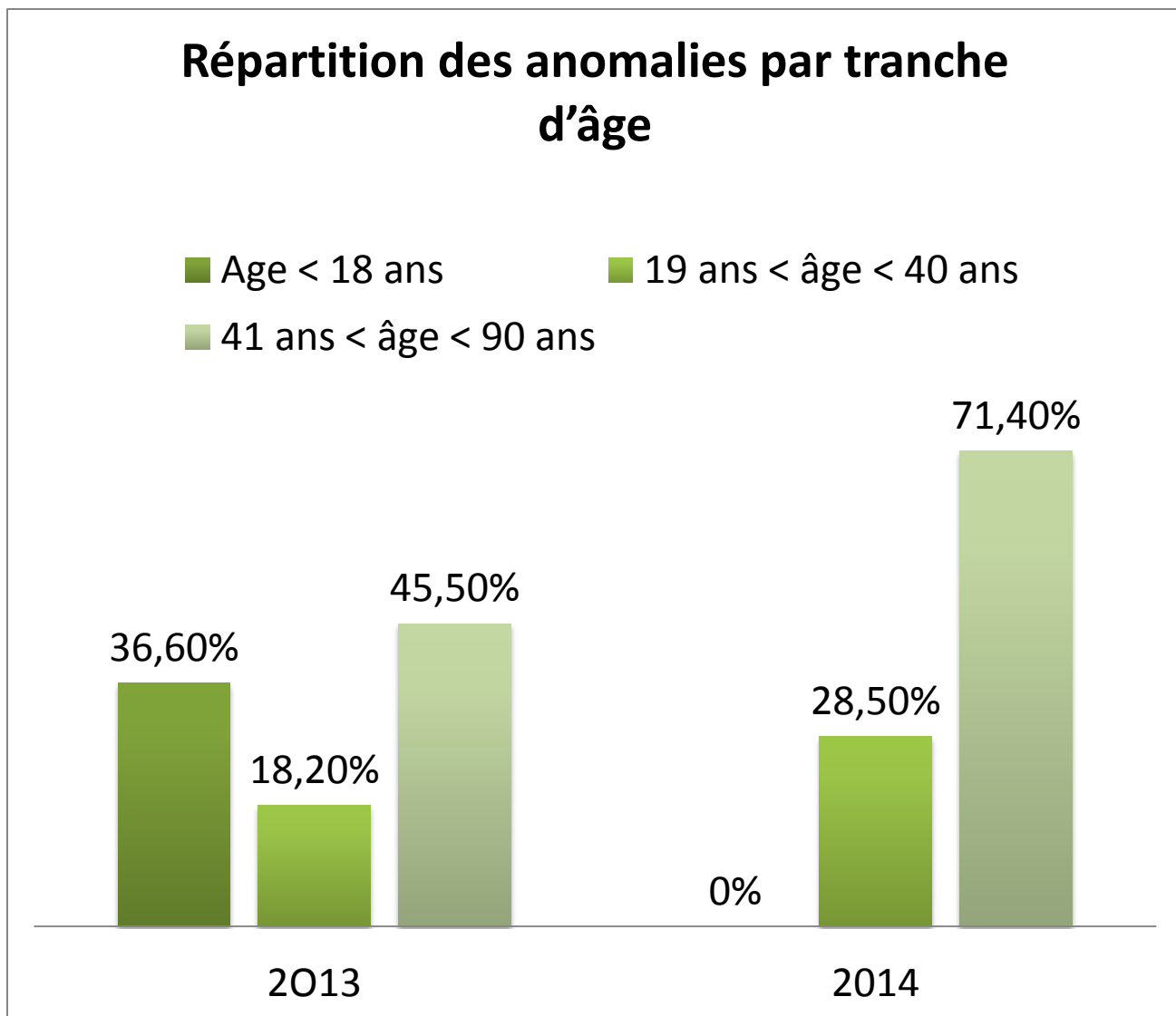


Figure 6 : Histogramme de la répartition des anomalies par tranches d'âges selon la période de l'étude

■ Tableau 11: Répartition des types d'anomalies selon la période de l'étude.

	Anisocytose		Poikilocytose		Microcytose		Anémie		Hypochromie		érythroblaste	
	eff	%	eff	%	eff	%	eff	%	eff	%	eff	%
2013	9	81,82	5	45,45	2	18,18	1	9,1	5	45,45		
2014	7	100			1	14,29	4	57,14			1	14,29



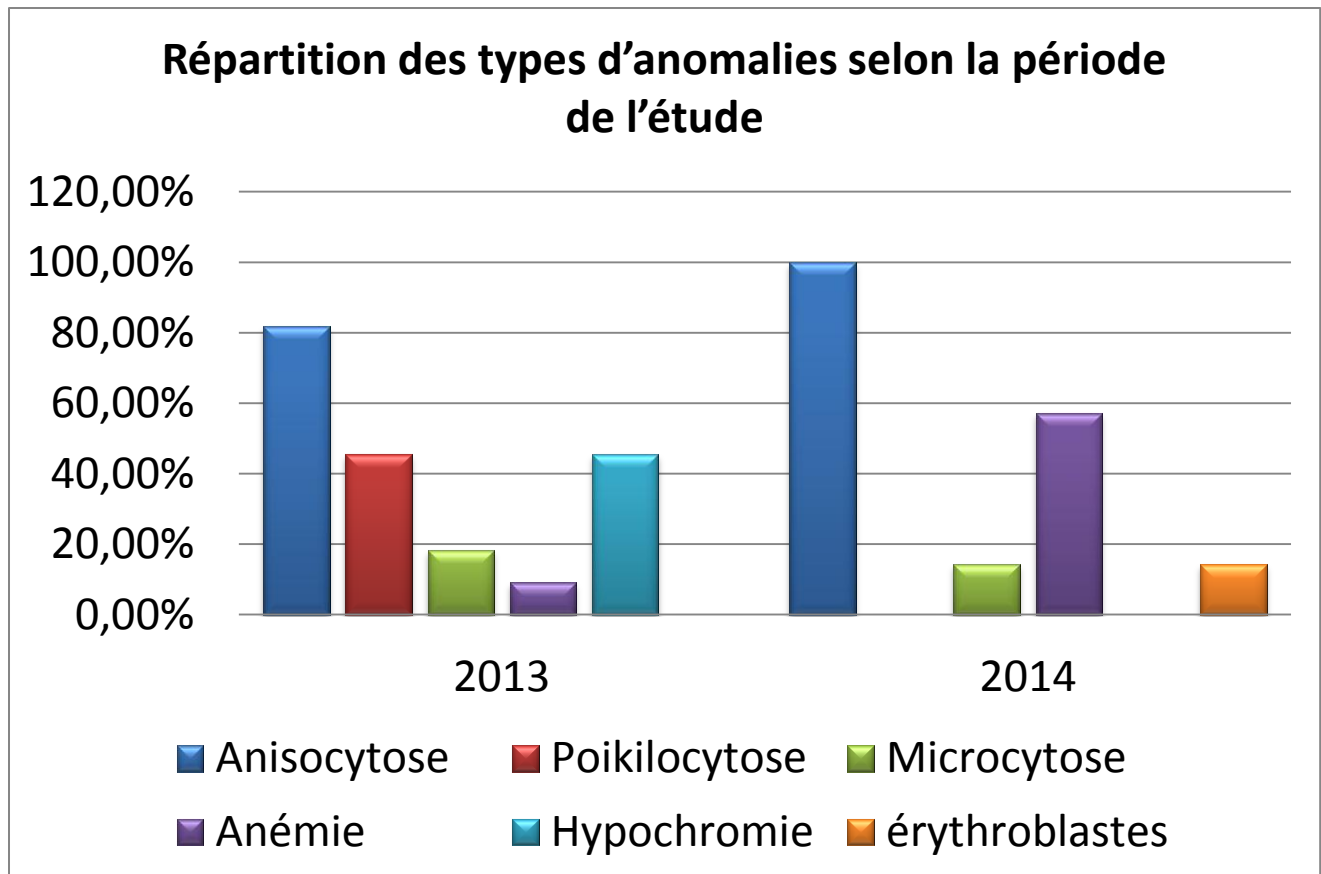


Figure 7 : histogramme de la répartition de types d'anomalies selon la période de l'étude

- **Interprétation des résultats :**

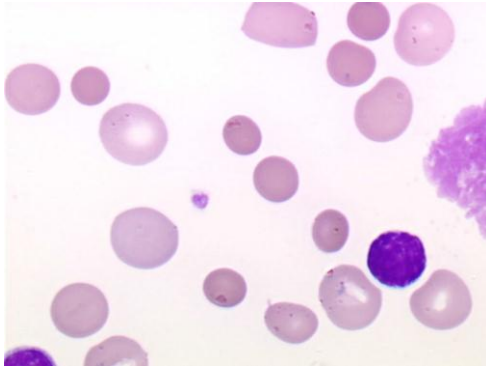
Les tableaux ci-dessus donnent une vue spécifique de la répartition des anomalies dans un échantillon de 60 pour 2013 et de même pour 2014, les anomalies enregistrées dans les deux années sont presque identiques de nombre sauf pour la tranche d'âge entre 1 an et 18 ans qui représente pour l'an de 2013, cinq anomalies de plus que l'an de 2014 qui donne aucun enregistrement d'anomalies.

Les anomalies enregistrées en 2013 affectent des patients entre l'âge de 3 mois à 11 ans chose qui peut être expliquée par le régime alimentaire vu que ces anomalies qui tournent autour d'une anisocytose qui est une variation de la dimension de globules rouges, associée à une microcytose signifiant la dominance des hématies de petite taille, ces derniers sont observés dans plusieurs anémies.

En ce qui concerne l'étude statistique regardant le Sexe des patients on remarque une augmentation de sexe masculin dans l'année 2014 ce qui peut être expliqué par une meilleure attention accordée par les hommes en vers leur santé au cours des années. Tandis que les valeurs du sexe féminin n'ont pas affiché de changement remarquable.

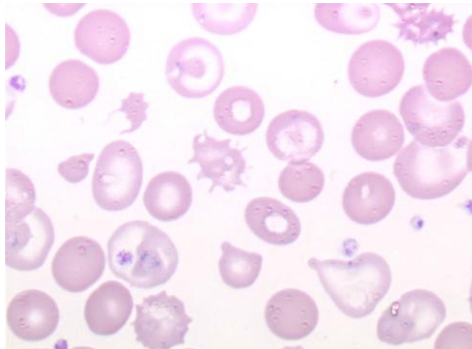
On remarque également que le plus grand pourcentage d'anomalies est enregistré sur la tranche d'âge allant de 41 ans à 90 ans, chose qui est normal vue les âges atteints tournant au tour des 80 ans. Les anomalies les plus enregistrés sont des anisocytoses et anémies, toute fois on ne peut pas conclure pour une période de 3 mois.

**Figures représentatives d'anomalies enregistrées par le frottis sanguin :**



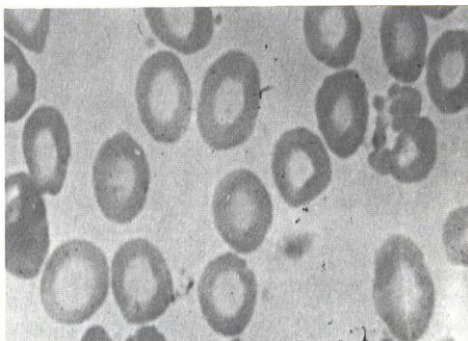
**Anisocytose** : hématies de diamètres différents (aspect de "double population érythrocytaire"). Dans un très grand nombre **d'anémies graves** (leucémiques, cancéreuses, hémolytiques, toxiques et les chimiothérapies)

Anisocytose CHU Michallon – Grenoble 2006



Poikilocytose : Hématies de formes différentes. (Du grec *poikilos* : varié)

Poikilocytose CHU Michallon – Grenoble 2006



Hypochromie ; M. Bessis – Edit. Masson

## **Conclusion**

Il est donc important de retenir :

- le comptage manuel de la formule sanguine est imprécis, et seule une forte diminution ou forte augmentation des valeurs pourra être détecté et donnera un diagnostic.
- Plusieurs facteurs d'erreurs rentrent dans la procédure manuelle, erreur d'échantillonnage, erreur de comptage, ainsi que des erreurs d'observation. Tous regroupés peuvent aboutir à des résultats faussés, et par conséquent un diagnostic et un traitement inconvenable.
- L'automatisation de l'hématologie permet une évolution dans le comptage et la coloration par l'amélioration de la qualité des frottis produits, d'où l'amélioration de la qualité des résultats observés.
- Le pourcentage d'anomalies observées est dans la grande majorité des anémies, toute fois pour une période de trois mois on ne peut pas tirer de conclusion, il faut étaler l'étude pour une période plus longue (1 an par exemple), pour avoir des résultats concrets.

**Propositions pour l'amélioration de la qualité des services rendus par le laboratoire central d'hématologie CHIS-Rabat**

- Le laboratoire d'hématologie possède une grande capacité de travail ainsi qu'une bonne gestion, toute fois pour une meilleure qualité du service rendu aux patients quelques mesures doivent être considérées :
  - ~ Le Sysmex Sp 1000i nécessite un grand volume pour l'aspiration de la goutte sanguine ce qui mène le technicien à étaler manuellement plus de 50% des échantillons, pour avoir une automatisation complète du frottis sanguin, l'utilisation des tubes spécifiques pour des petits volumes sera suffisant.
  - ~ Les techniciens du laboratoire central d'hématologie n'ont pas les manuelles des automates sous la main chose qui nécessite la présence du technicien spécialisé de la société en question pour effectuer le calibrage et la maintenance des appareils, ce va et vient coûte chère pour le laboratoire.
  - ~ Les ponctions sternales sont effectuées sur des lames standards qui sont impossibles de colorer dans le sysmex Sp 1000i, pour cela le laboratoire d'hématologie importe un autre automate pour la coloration des moelles du moment où peut pratiquer les ponctions sur les Sp-slides spécifiques au Sysmex Sp 1000i.

## **Bibliographie**

1. Duhamel G., Duhamel E., cytologie Hématologique, les cellules pathologiques / et II, Coloration au May-Grunwald Giemsa RAL, Biologiste et praticien et Réactifs de RAL 1984 et 1989
2. Coloration de Pappenheim, Présentation théorique des mécanismes cytochimiques des colorants neutres avec applications techniques détaillées, Journée du technicien biologiste, mars 1980, 1.9. Ecole national de chimie
3. GENTILHOMME O., TREILLE-RITOUET D., BRYON P-A., cytologie hématologique, les cellules normales, Coloration au May-Grunwald Giemsa R.A.L 1989.
4. LANGERON M., Précis de microscopie, Masson & Cie, 6<sup>ème</sup> édition, 1942, p. 566.585.
5. MATHIOT C., Cytologie en hématologie, Quelques aspects de la pathologie, Biologiste et Praticien et Réactifs de R.A.L.
6. © 2011 Sysmex America, Inc. Numéro de Document MKT-10-1126-F 09/201.
7. Contribution à l'étude statistique de la formule leucocytaire manuelle chez le chien : Effet frottis et Effet observateur, Thèse : 2006 – TOU3 – 4079 Ecole national vétérinaire de Toulouse
8. Hématologie (316). D. Sainty, Janvier 2006 ; p.1.2. Faculté de médecine de Marseille