

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو



ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵓⵎⵓⵔⵓⵔ ⵏ ⵓⵏⵉⵎⵓⵏⵉⵏ ⵏ ⵓⵏⵉⵎⵓⵏⵉⵏ ⵏ ⵓⵏⵉⵎⵓⵏⵉⵏ

Département de Pharmacie

N° d'ordre.../.../2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté et soutenu publiquement

Le 28 JUNE 2018

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

Étude des Pseudothrombopénies au laboratoire
d'Hémiobiologie du CHU TIZI OUZOU unité Nedir
MOHAMED

Réalisé par :

M^{re}TADRIST Sofiane

M^{re}GUENAIZI Abdeslam.

Promotrice: Dr KESSAL Fatma.

Co-promotrice: Dr OUZID Samia.

Membres du jury :

Dr. SI SMAIL Nedjma	MAHU	UMMTO	Présidente du jury.
Dr. KESSAL Fatma	MAHU	UMMTO	Promotrice.
Dr. OUZID Samia	Assistante	CHU TO	Copromotrice.
Dr. IDIR Samir	MAHU	UMMTO	Examineur.
Dr. AGOURNAZ Sonia	Assistante	CHU TO	Examinatrice.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017/2018

Dédicace :

*Je dédie ce modeste travail :
À ma mère et mon père. Que dieu leur procure
Bonne santé et longue vie.*

À Ma défunte grand-mère, paix à son âme

À mes chers frères et sœurs.

À mon binôme Sofiane.

*À mes amis ; Chafai, Islam, Merouane, Slimane et à tous ceux
présents ou partis,
et à qui je penserai toujours.*

*À toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin
À accomplir ce travail,*

Merci,

Abdeslem.

Dédicace :

À mes très chers parents... Nul mot ne saurait exprimer à sa juste valeur le dévouement et le profond respect que je porte envers vous, rien au monde ne pourrait compenser tout ce que vous avez fait pour moi. Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de mon grand amour. Que Dieu vous accorde, santé, bonheur et prospérité.

À mes très chers frères et sœurs

J'espère avoir été à la hauteur de vos estimations et que ce travail soit un témoignage de mes sentiments les plus chers que j'ai pour vous et représente le bon modèle pour vous.

Que dieu vous protège et vous accorde un brillant avenir avec une vie pleine de joie, de bonheur et succès.

À mes oncles et tantes pour leur encouragement

À tous mes amis pour leur amitié infaillible, et pour leur coup de pouce et à tous mes collègues et amis de la faculté de médecine et de pharmacie de Tizi Ouzou.

À tous les professeurs auprès de qui j'ai eu l'honneur d'apprendre et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

À toutes les personnes qui me sont chères.....

.....Je dédie ce travail en espérant la réussite et le succès.

Sofiane.

Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **DIEU**, le tout puissant, pour sa miséricorde, son secours, ses bénédictions et grâces.*

Un mémoire ne pouvant se faire seul, nous souhaitons adresser nos vifs remerciements à toutes les personnes qui ont apporté leur appui à sa réalisation.

En premier lieu, à nos encadreurs,

*Docteur **KESSAL Fatma**, Maitre assistante en Hémobiologie. Ces quelques mots ne suffiront pas à vous exprimer notre profonde gratitude pour avoir accepté d'encadrer et de diriger ce travail, pour vos encouragements, pour le temps que vous nous avez accordé.*

On n'oubliera pas votre humilité, votre gentillesse, votre patience, votre soutien et vos précieux conseils.

*Docteur **OUZID Samia**, Assistante en Hémobiologie, qui nous a également fait l'honneur de Co-encadrer ce travail. Nous vous sommes très reconnaissants. Veuillez trouver ici l'expression de notre haute gratitude et de notre considération.*

Puis à notre jury de mémoire,

*Docteur **SISMAIL Nadjma** Maitre-assistante en Hémobiologie, qui a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ce mémoire.*

*Docteur **IDIR Samir**, Maitre-assistant en Pédiatrie qui a accepté d'évaluer et de juger notre travail et qui contribuant sans nul doute, à l'enrichir par ses propositions en vue de son perfectionnement.*

*Docteur **AGOURNAZ Sonia**, Assistante en Hémobiologie qui a également accepté d'évaluer notre mémoire contribuant ainsi, par ses remarques.*

Nous voulant également remercier

Tous les membres du Laboratoire hémobiologie du CHU de Tizi Ouzou.

Et puis, ce travail a pu être mené à terme grâce à l'aide de plusieurs personnes à qui nous tenons à témoigner toute notre reconnaissance.

Merci,

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations.....	iii
Liste des tableaux	v
Listes des figures	vi
Introduction générale et objectifs	01

PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES PLAQUETTES SANGUINES

1. Définition	02
2. La mégacaryocytopoïèse et thrombopoïèse :	02
3. La thrombopoïèse	03
4. Structure et anatomie fonctionnelle des plaquettes :	04
5. Fonctions des plaquettes :	05
6. Les méthodes d'exploration	06
6.1 Numération plaquettaire	06
6.2 Frottis sanguin	06
6.3 Principaux tests d'exploration TCA, TQ et TS :	06

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES THROMBOPENIES

1. Définition et physiopathologie.....	07
2. Signes cliniques	07
3. Démarche diagnostique :	08
3.1 Confirmer la réalité de la thrombopénie en excluant les fausses thrombopénies liées à des artéfacts :	08
3.2 Apprécier le contexte clinique et le type de pathologie associée.....	09
3.3 Appréciation du risque hémorragique.....	09
3.4 Identifier le mécanisme central ou périphérique.....	10
4. Étiologies des thrombopénies :	10
4.1 Les thrombopénies centrales :	10
4.1.1 Thrombopénies constitutionnelles :	10
4.1.2 Thrombopénies acquises :	11

Chapitre III : LES PSEUDOTHROMBOPENIES :

1. Définition des pseudothrombopénies	13
2. La prévalence des pseudothrombopénies.....	13
3. Les circonstances de survenue des pseudothrombopénies.....	14

4. Les implications cliniques des pseudothrombopénies	14
5. Classification des pseudothrombopénies	15
5.1. Les pseudothrombopénies EDTA-dépendantes	15
5.1.1. L'agrégation plaquettaire liée à l'EDTA	15
5.1.2. Satillitisme des plaquettes autour des leucocytes	17
5.1.3. Agrégation mixte neutrophiles-plaquettes en présence d'EDTA	17
5.2. Les pseudothrombopénies non EDTA-dépendantes.....	17
5.2.1. Causes liées aux erreurs à la phase préanalytique	17
5.2.2. Causes liées à l'appareillage	18
5.2.3. Causes liées à l'échantillon.....	19
5.2.3.1. Les plaquettes géantes :	19
5.2.3.2. Les microplaquettes :	19
5.2.4. Causes liées à l'anticoagulant autre que l'EDTA.....	19
5.2.4.1. L'héparine :	19
5.2.4.2. L'hirudine :	19
5.2.5. Causes liées à la prise de médicament	19
5.2.6. Autres causes de la pseudothrombopénie non EDTA-dépendante.....	20
5.2.6.1. Le myélome multiple :	20
5.2.6.2. Le nouveau-né prématuré :	20
5.2.6.3. Changement de l'insulinothérapie :	20

DEUXIEME PARTIE : ETUDE PRATIQUE

Matériel et méthodes	21
Résultats	26
Discussion	57
Conclusion et recommandations	72
Bibliographie	
Annexes	

Abréviations :

AHC : Automates d'Hématologie Cellulaire
AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdienne.
BFU : Burst-Forming Unit.
CEC : Circulation ExtraCorpusculaire.
CFU : Colony Forming Unit.
CIVD : Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée.
CSF : Clone Stimulating Factor
DMS : Membrane de Démarcation
EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique
IL: Interleukine
FLI-1: Friend Leukemia Integration.
FOG-1: Friend of GATA-1
GATA-1: Globin Transcription Factor
GR : Globule Rouge.
HTA : Hypertension Artérielle
Ig : Imminuglobuline
MAT : Micro-Angiopathie Thrombotique.
MGG: May-Grünwald-Giemsa
MKs: Megakaryocyte.
NFS: Numeration Formule Sanguine
PDGF: Platelet-derived growth factor.
PF : Facteur Plaquettaire
PLT : Plaquettes.
PNN : Poly-Nucléaire Neutrophile.
PRP : Plasma Riche en Plaquettes.
PTAI : Purpura Thrombotique Auto-Immun
PTE : Pseudothrombopénie
PTIC : Purpura Thrombocytemique Chronique
PTT : Purpura Thrombotique Thrombopénique.
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique.
TCA : Temps de Céphaline Activée
TIH : Thrombopénie Induite par l'Héparine.
TP : Temps de Prothrombine.
TPO : Thrombopoïétine

TQ : Temps de Quick

TS : Temps de Saignement.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VPM : Volume Plaquettaire Moyenne.

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Mécanismes de la thrombopénie selon le contexte clinique	09
Tableau 02 : représente les effectifs des prélèvements des patients hospitalisés, des prélèvements reçus, des thrombopénies et les fausses thrombopénies dans notre série	26
Tableau 03 : Distribution des cas suivant l'origine géographique.....	30
Tableau 04 : Distribution de la population selon le type des prélèvements effectués.	45
Tableau 05 : Distribution des cas selon la difficulté du prélèvement effectués.....	46
Tableau 06 : Distribution de patients selon le taux de plaquettes sur tube EDTA.	51
Tableau 07 : Représente les incidences de pseudothrombopénie dans différentes études	57

Liste des figures :

Figure 01 : Frottis de sang normal coloré (MGG).Grossissement $\times 1\ 000$. Globules rouges normaux par leur taille, leur colorabilité et leur forme.Plaquettes normales par leur taille et leur contenu en grains	04
Figure 02 : Agrégats de plaquettes sur frottis sanguin (adulte sain).....	15
Figure 03 : Images illustrant le satellitisme plaquettaire autour des PNN et un monocyte	16
Figure 04 : Représentation graphique de larépartition des cas selon le sexe	27
Figure 05 : Représentation graphique de la répartition des cas selon les tranches d'âge	28
Figure 06 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le sexe et les tranches d'âge.....	29
Figure 07 : Cartogramme représente la distribution des patients suivant l'originegéographique.	31
Figure 08 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le service de consultation	32
Figure 09 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le sexe et le service de consultation.	33
Figure 10 : Représentation graphique de la fréquence de fausse thrombopénie chez les malades transfusés et non transfusés.....	34
Figure 11 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les produits sanguins labiles utilisés pour la transfusion.	35
Figure 12 : Représentation graphique de la distribution des fausses thrombopénies selon les antécédents pathologiques des patients	36
Figure 13 : Représentation graphique de la répartition des fausses thrombopénies selon la présence ou l'absence du traitement.....	37
Figure 14 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les thérapies adoptées.	38
Figure 15 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l'absence du Stress lors du prélèvement sanguin.	39
Figure 16 : Représentation graphique de la répartition des cas selon la présence ou l'absence d'activités physiques.	40

Figure 17 : Représentation graphique de ladistribution des cas selon la présence ou l’absence des efforts physique dans les 3 derniers jours.	41
Figure 18 : Représentation graphique de ladistribution des cas selon la présence ou l’absence du sentiment de peur lors du prélèvement au CHU Tizi Ouzou.	42
Figure 19 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l’absence des habitudes toxiques.....	43
Figure 20 : Représentation graphique de la distribution des cas selon leur type d’alimentation.	44
Figure 21 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le volume de remplissage des tubes	47
Figure 22 : Représentation graphique de la distribution des cas par rapport au délai entre le prélèvement et l’analyse.....	48
Figure 23 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la température lors du prélèvement.	49
Figure 24 : Représentation graphique de la distribution des cas selon l’homogénéisation des tubes lors du prélèvement.....	50
Figure 25 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le pourcentage cumulé des taux de plaquettes sur EDTA.	52
Figure 26 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le volume plaquettaire moyen (VPM).....	53
Figure 27 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la richesse plaquettaire estimée sur le frottis sanguin.	54
Figure 28 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le type de l’anomalie plaquettaire.	55
Figure 29 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les taux de plaquettes sur tube citraté (G/L).	56

Introduction générale

“Le secret d’un bon discours, c’est d’avoir une bonne introduction et une bonne conclusion. Ensuite, il faut s’arranger pour que ces deux parties ne soient pas très éloignées l’une de l’autre.”

George Burns

Introduction Générale

Les automates d'hématologie cellulaire fournissent des résultats précis et reproductibles. Cependant, diverses conditions préanalytiques ou inhérentes au principe d'analyse des paramètres de l'hémogramme sont susceptibles d'induire des résultats erronés.

Le biologiste doit connaître ces diverses situations autant que le principe de fonctionnement de son automate, afin d'éviter de rendre des résultats inexacts qui peuvent avoir un impact non négligeable pour le patient et sa prise en charge.

La validation du taux de plaquettes indiqué sur l'hémogramme par l'automate n'est pas systématique et devant tout cas de thrombopénie, il faut s'assurer qu'il s'agit bien d'une vraie thrombopénie et non d'une thrombopénie artéfactuelle.

La thrombopénie artéfactuelle ou pseudothrombopénie ou fausse thrombopénie est un compte plaquettaire diminué par rapport aux valeurs normales, observé dans l'hémogramme, due aux conditions de réalisation de l'hémogramme et cela lorsqu'il n'y a pas de diminution du taux de plaquettes in-vivo.

La pseudothrombopénie peut être due à plusieurs éléments comme, les conditions pré analytiques, l'anticoagulant utilisé, les agglutinines froides, la température, la taille des plaquettes.

Au laboratoire, la découverte d'une thrombopénie est toujours vérifiée par examen du frottis sanguins. Celui-ci débute toujours par la recherche d'agrégats plaquettaires, puisque leur présence permet d'affirmer une thrombopénie artéfactuelle.

La problématique dans notre étude est de comprendre les différents éléments qui interviennent dans ce phénomène in-vitro, afin d'éviter toute décision clinique inappropriée ou des interventions thérapeutiques inutiles et d'établir une démarche diagnostic étiologique devant la découverte d'une fausse thrombopénie.

Enfin, par manque de données à l'échelle nationale, nous avons jugé utile de réaliser cette étude prospective et descriptive sur 51 patients, ayant présenté une fausse thrombopénie et dont l'objectif est d'étudier le profil épidémiologique, clinique, pré analytique et analytique de ces patients.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

« C'est la théorie qui décide
de ce que nous pouvons observer. »

Albert Einstein.

Chapitre I :
Généralités sur Les
plaquettes sanguines

I. Généralités sur les plaquettes sanguines

1. Définition :

Les plaquettes sanguines (PLT) sont de petites cellules anucléées discoïdes provenant de la fragmentation du cytoplasme de grandes cellules de la moelle osseuse, les mégacaryocytes (Chaque mégacaryocyte produit 2000 à 5000 plaquettes). Les PLT sont distribués principalement dans le compartiment sanguin : la numération plaquettaire normale est de 150 – 400 G/L, constante tout au long de la vie[1] Par ailleurs environ 30% de la masse plaquettaire de l'organisme est séquestrée de manière réversible dans la rate. Leur durée de vie est de 7 à 10 jours, et à l'état normal les PLT vieilles sont éliminées par les macrophages du système réticulo-histiocytaire de la moelle osseuse (également de la rate et du foie). Leur fonction majeure est leur implication dans l'hémostase primaire, par leur propriété de forte capacité d'adhésion aux structures endothéliales, où elles seront les premiers éléments à intervenir dans l'arrêt du saignement : elles subiront localement diverses modifications en rapport avec leur activité hémostatique. Elles ont en réalité un rôle majeur dans les mécanismes de l'hémostase, de la coagulation et de la thrombose. Leur structure et leur contenu conditionnent leur efficacité, comme le montrent à la fois leurs déficits quantitatifs et qualitatifs[2].

2. La mégacaryocytopoïèse et thrombopoïèse

2.1. La mégacaryocytopoïèse

La mégacaryocytopoïèse peut être décrite comme des étapes discrètes d'un continuum dans lequel les cellules souches hématopoïétiques deviennent mégacaryocytes thrombocytogènes (plaquettogènes) [3]. Tout d'abord, des cellules souches hématopoïétiques pluripotentes subissent un "engagement" sous l'influence à la fois de cytokines et de facteurs de transcription tels que GATA-1, FOG-1, FLI-1 [4]. En se différenciant, celles-ci se spécialisent progressivement et deviennent des cellules souches unipotentes (BFU-MKs et CFU-MKs), capables de proliférer sous l'impulsion régulatrice d'interleukine-3 et du CSF-Méga (Megakaryocyte-Clone Stimulating Factor). Dans des conditions de cultures appropriées, BFU-MKs (Burst Forming Unit-Megakaryocyte, moins mature) et CFU-MKs (Colony Forming Unit-Megakaryocyte, plus mature) peuvent donner lieu à de grandes ou petites colonies de MKs, respectivement. Ensuite, les CFU-MKs perdent la capacité d'auto-renouvellement et s'engagent dans un processus d'endomitose sous l'action régulatrice de la thrombopoïétine (TPO). La chromatine nucléaire se multiplie mais sans division cellulaire, conduisant à la polyploïdisation

et l'élargissement cellulaire. Enfin, le MK immature (mégacaryoblaste) complète sa différenciation terminale en un MK mature, avec un noyau hyperploïdes $>16N$.

Dès le stade mégacaryocytaire, des protéines spécifiquement plaquettaires comme le complexe IIbIIIa et le facteur plaquettaire-4 (PF4) sont synthétisées et présentées à la surface des MKs. D'autres protéines d'origine plasmatique sont intégrées aux granules par un mécanisme d'endocytose (fibrinogène, thrombospondine) ou de pinocytose (albumine, immunoglobulines IgG) [5]

La thrombopoïétine (TPO) constitue la cytokine essentielle régulatrice de la prolifération et de la maturation des progéniteurs de la lignée mégacaryocytaire [6]. Une glycoprotéine, synthétisée principalement dans le foie. [7]

2.2. La thrombopoïèse

À la fin de la mégacaryopoïèse, les précurseurs mégacaryocytaires deviennent matures et sont aptes à la production de plaquettes, ils sont appelés MK thrombocytogènes qui sont identifiables par la présence de proplaquettes.

L'élaboration des plaquettes est un processus dynamique impliquant notamment les éléments du cytosquelette. Elle débute par la formation des proplaquettes qui nécessite une grande organisation de manière à transformer le cytoplasme des mégacaryocytes en prolongements cytoplasmiques de 100 à 500 μm de long et de 2 à 4 μm de diamètre. La formation des proplaquettes se poursuit jusqu'à l'utilisation complète du cytoplasme et du système de membrane de démarcation. À terme le noyau du mégacaryocyte est compacté et expulsé du corps de la cellule pour être dégradé. La libération des plaquettes ne se produit qu'à l'extrémité de ces proplaquettes et doit se faire au niveau de la circulation sanguine [8]

3. Structure et anatomie fonctionnelle des plaquettes

⇒ En microscopie optique

Sur étalement sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa (MGG), ce sont de petits éléments hétérogènes en taille et forme, souvent arrondis ou ovalaires, de 2-3 μm de diamètre : le cytoplasme est clair, légèrement basophile, et contient des granulations azurophiles.

Le Volume Moyen Plaquettaire (VMP) normal est de 7 – 12 femtolitre (fl.).

⇒ En microscopie à contraste de phase

Elles apparaissent discoïdes, émettent des prolongements et s'étalent après contact avec le verre (prélèvement citraté). La morphologie des plaquettes se modifie lorsqu'elles sont activées : elles deviennent sphériques, émettent des pseudopodes et les granules se centralisent.

⇒ En microscopie électronique

Elles apparaissent également discoïdes, elles présentent une structure très particulière en accord avec leurs fonctions primaires d'adhésion à l'endothélium et d'autoagrégation :

- membrane cytoplasmique riche en glycoprotéines
- système membranaire complexe intracytoplasmique
- système microtubulaire et microfibrillaire (cytosquelette) ;
- système de granulations intracytoplasmiques[9].

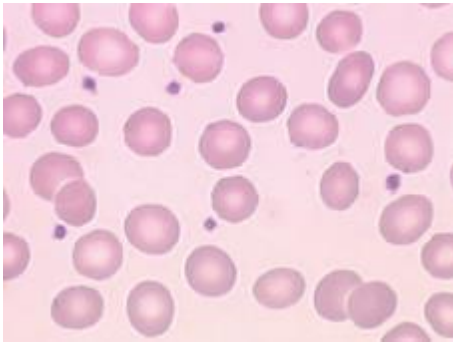


Figure 01. Frottis de sang normal coloré au (MGG). Grossissement $\times 1\ 000$. Globules rouges normaux par leur taille, leur colorabilité et leur forme. Plaquettes normales par leur taille et leur contenu en grains[10]

4. Fonctions des plaquettes

- Rôle majeur dans **l'hémostase primaire** : les interactions paroi vasculaire lésée et plaquettes, plaquettes – plaquettes, puis plaquettes et facteurs de coagulation mettent en jeu les divers composants de la plaquette.
- Rôle important dans **la coagulation plasmatique** : la redistribution en surface des phospholipides anioniques de la partie interne de la membrane de la plaquette, sert de base à l'activation de facteurs de coagulation (Va et Xa), ce qui débute la génération de thrombine.
- Rôle dans **la fibrinolyse**
- Autres fonctions :
 - Inflammation : les plaquettes peuvent majorer la réaction inflammatoire par la sécrétion de facteurs de perméabilité vasculaire, leur aptitude à promouvoir le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles (P-sélectine), par la synthèse des prostaglandines.
 - Immunologique : les plaquettes ont à leur surface un récepteur pour les IgE. Elles peuvent être activées par les complexes Ag/Ac.

- CIVD : activation des plaquettes par lésion de l'endothélium.
- Métastase des cancers : les plaquettes forment des microthrombi autour des cellules malignes, favorisant à la fois leur immobilisation et leur pénétration dans les tissus.
- Action sur la paroi vasculaire : Les plaquettes sécrètent le PDGF (Platelet-derived growth factor), stimulant de la prolifération des fibres musculaires lisses.[11-15].

5. Les méthodes d'exploration

5.1. Numération plaquettaire

L'hémogramme est réalisé à partir de sang veineux ou capillaire prélevé dans un tube contenant un anticoagulant recommandé, l'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) [16]. Un autre anticoagulant, le citrate, peut également être utilisé. Il est notamment indiqué dans le cadre d'une thrombopénie liée à une thrombo-agglutination à l'EDTA. Le prélèvement doit être analysé dans les 6 heures [17]. En routine, l'analyse des plaquettes associe la numération plaquettaire et la détermination du Volume Plaquettaire Moyen (VPM). [18-20].

5.2. Frottis sanguin

L'examen morphologique des plaquettes constitue une étape importante dans la validation biologique d'une thrombopénie avec ou sans anomalie de la courbe de répartition de taille des plaquettes[21].

En pratique quotidienne, le frottis sanguin se fait à partir d'un tube de sang prélevé en présence d'EDTA et coloré au MGG, Wright ou Wright-Giemsa (ANNEXE I). Les frottis doivent être réalisés le plus rapidement possible après le prélèvement. En effet il est connu que le contact de plaquettes en présence d'EDTA est susceptible d'entraîner un gonflement des plaquettes temps-dépendant[22]. La morphologie plaquettaire doit être appréciée attentivement au microscope optique sur frottis sanguin qui permet également de rechercher les anomalies morphologiques des autres lignées hématopoïétiques.

Sur l'étalement sanguin, les plaquettes sont des cellules anucléées, hétérogènes en taille et en forme, souvent arrondis ou ovalaires, de 2-3 μm de diamètre. Cette anisocytose est physiologique. Le cytoplasme renferme des granulations azurophiles ou pourpres (seuls les granules α sont colorés au MGG) disposées régulièrement ou regroupées en position centrale (granulomère), et un liseré clair périphérique agranulaire (hyalomère). L'examen du frottis sanguin coloré au MGG constitue toujours la technique de référence pour l'évaluation de la taille plaquettaire. Les microscopes peuvent être équipés d'un micromètre oculaire gradué qui se superpose à l'image du frottis. En fonction de leur taille, les plaquettes sont classées en plusieurs types : plaquettes normales, plaquettes de petite taille (nommées également

microplaquettes), plaquettes de grande taille (macroplaquettes), et plaquettes géantes (de taille supérieure à celle des hématies)[23].

5.3.Principaux tests d'exploration

Le temps de céphaline activée (TCA), le temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP) et le temps de saignement (TS) couplés à la numération de plaquettes permettent d'explorer respectivement la voie intrinsèque et extrinsèque de la coagulation et l'hémostase primaire.

Le temps de saignement cutané par la méthode de Duke est abandonné depuis plusieurs années, la méthode d'Ivy, mesure classique de la fonction plaquettaire globale est opérateur-dépendante, peu reproductible et invasive. Plusieurs automates, analyseurs de la fonction plaquettaire, très sensibles au facteur Willebrand, ont été développés pour simplifier les explorations plaquettaires et raccourcir le temps de réponse comme par exemple le PFA-100® (pour platelet function analyser).[2]

Ces tests « de base » (TP, TCA) sont utilisés en première intention pour orienter le diagnostic étiologique d'un syndrome hémorragique.[24]

Chapitre II :
Généralités sur les
thrombopénies

II. GENERALITES SUR LES THROMBOPENIES

1. Définition et physiopathologie

La thrombopénie, très fréquemment constatée en clinique, se définit par une diminution du nombre des plaquettes circulantes en dessous de 150 G/L. La découverte de la thrombopénie peut être fortuite, lors d'un examen systématique, ou résulter de la pratique d'un hémogramme devant des signes hémorragiques.[25]

Selon le mécanisme, on peut différencier les thrombopénies centrales et les thrombopénies périphériques.

Les thrombopénies centrales sont liées à une insuffisance de la mégacaryocytopoïèse :

- ✚ Soit par déficit quantitatif (mégacaryocytes absents ou diminués) avec insuffisance médullaire globale ou limitée à la lignée mégacaryocytaire, ou envahissement médullaire.
- ✚ Plus rarement par déficit qualitatif (mégacaryocytes normaux ou augmentés), la thrombopoïèse étant inefficace.

Les thrombopénies périphériques peuvent être liées à :

- Une hyperdestruction, le plus souvent immunologique ; par fixation d'autoanticorps par leur fragment Fab, dirigés vers un antigène spécifique de la membrane plaquettaire, en particulier la GPIIb-IIIa ; ou par fixation de complexes immuns par leur fragment Fc. Les plaquettes sont alors phagocytées par les macrophages.[23]
- Une consommation excessive, due à une activation plaquettaire ou à un déclenchement anormal de la coagulation. Elle est alors souvent associée à des anomalies de la coagulation plasmatique,
- Une répartition anormale, avec majoration du pool splénique
- Une dilution, essentiellement lors des transfusions massives.[25, 26]

2. Signes cliniques :

Les plaquettes sanguines sont le support de l'hémostase primaire et même de la coagulation plasmatique proprement dite. Une anomalie quantitative et/ou qualitative est responsable de troubles hémorragiques surtout si elle est combinées à une comorbidité avec un terrain

particulièrement fragile. Le syndrome hémorragique est de sévérité variable et typiquement cutanéomuqueux, il se manifeste par :

- **Purpura** qui associe des **pétéchies** et **ecchymoses**. Les pétéchies (petites taches cutanées de couleur rouge à violacée) prédominent habituellement aux membres inférieurs alors que les ecchymoses (une extravasation sanguine dermique), souvent favorisées par des traumatismes minimes, sont parfois étendues non effaçable à la vitro pression.
- Saignements articulaires (**hémarthroses**) et musculaires (**hématomes**) rares.
- **Ménométrorragies**
- Hémorragies continues aux points de piqûres (anomalie de la coagulation).
- Des saignements muqueux avec des **épistaxis** souvent bilatéraux, **gingivorragies**.
- **Hématuries**

Le syndrome hémorragique peut se compliqué par :

- La découverte de bulles hémorragiques endobuccales ;
- La présence d'un purpura cutanéomuqueux extensif, à fortiori s'il est nécrotique ;

Le pronostic vital est mis en jeu en présence des signes suivant :

- La thrombopénie peut aussi être responsable d'hémorragies rétiniennes souvent méconnues mais qui peut être découverte par l'examen de fond d'œil.
- L'apparition de signes neurologiques ou d'une céphalée intense et persistante qui témoigne d'un saignement cérébro-méningé.

Les hémorragies graves viscérales et cérébro-méningées ne surviennent habituellement, tout comme pour le purpura thrombopénique immunologique, qu'à des chiffres inférieurs à 20 G/L). [27]

3. Démarche diagnostique

3.1. Confirmer la réalité de la thrombopénie en excluant les fausses thrombopénies liées à des artefacts

Le diagnostic de thrombopénie est aisé grâce à la prescription fréquente de numérations formules sanguines, Cependant, la mesure du chiffre de plaquettes par les automates compteurs de cellules peut être prise en défaut [28]. Il est ainsi important de confirmer la réalité de la thrombopénie et d'éliminer une fausse thrombopénie. En cas de doute, un prélèvement sur citrate de sodium ou par prélèvement capillaire est nécessaire. La rareté des plaquettes sur frottis sanguin et l'absence d'agrégats plaquettaires confirment le diagnostic de thrombopénie[28].

3.2. Apprécier le contexte clinique et le type de pathologie associée

Si la profondeur de la thrombopénie est en elle-même peu spécifique d'une étiologie, le contexte clinique permet souvent d'orienter son diagnostic étiologique.

Tableau Clinique	Mécanismes impliqués
Sepsis	CIVD, hémophagocytose, anticorps anti- plaquettes
Insuffisance rénale aiguë	MAT (SHU, crise rénale sclérodermique, HTA maligne)
Anomalies neurologiques	MAT (PTT, HTA maligne)
Cirrhose	Hypersplénisme, toxicité directe de l'alcool sur les mégacaryocytes, carences nutritionnelles (folates), défaut de production de Tpo
Syndrome coronarien aigu, angioplastie coronaire	anti GPIIb/IIIa, TIH, PTT (clopidogrel), CPBIA
poly traumatisme, hémorragie massive, postchirurgical	Transfusion massive, dilution, consommation
Chirurgie cardiaque	CEC, TIH, dilution

Tableau 01 : Mécanismes de la thrombopénie selon le contexte clinique.[29]

3.3. Appréciation du risque hémorragique

Il apparaît que le risque de saignement spontané est élevé pour un chiffre de plaquettes inférieur à 20 G/L chez des patients ayant des risques associés de saignements tels qu'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), un traitement anticoagulant ou antiplaquettaire (héparine, aspirine, AINS...), une insuffisance rénale ou hépatique, un antécédent de saignement récent ou un état septique. Le risque de saignement est éminent avec une thrombopénie centrale.

Chez les patients présentant une thrombopénie < 50 G/L, les gestes à risque hémorragique (chirurgies, biopsies, injections intramusculaires, ponction lombaire...) doivent être évités.

Il est important de tenir compte, au-delà du chiffre de plaquettes, des pathologies associées telles la fièvre, le sepsis, l'hypertension artérielle, l'insuffisance rénale ou hépatique, les anomalies acquises des fonctions plaquettaires pour apprécier le risque potentiels de saignement[30, 31]

3.4. Identifier le mécanisme central ou périphérique

L'étude du myélogramme permet d'avoir une orientation sur le mécanisme central ou périphérique de la thrombopénie.

En théorie, le myélogramme permet de séparer ces deux entités. En fait, un myélogramme normal n'exclut pas une diminution de production médullaire et ne permet donc pas d'affirmer une origine périphérique. Cet examen ne doit pas être systématique. Il sera réalisé lorsqu'on suspecte une hémopathie, voire en cas de doute avant de mettre en place un traitement susceptible de la masquer (corticoïdes). Il est d'autant plus pratiqué que le praticien est inexpérimenté.

C'est donc l'étude attentive du contexte par l'interrogatoire et l'examen clinique et de l'hémogramme qui doit orienter les investigations. Le myélogramme permet de séparer les thrombopénies centrales et les thrombopénies périphériques, mais n'est pas indispensable en première intention, notamment chez l'enfant si la thrombopénie est isolée et se corrige rapidement.

En cas de thrombopénie centrale, le myélogramme montre une diminution voire une disparition des mégacaryocytes, éventuellement associée en cas de dysplasie à des anomalies morphologiques témoignant d'un trouble de maturation des mégacaryocytes. Il peut également révéler la présence de cellules anormales, leucémiques ou métastatiques. En cas de thrombopénie périphérique, la moelle est normale et riche en mégacaryocytes.[32]

4. Étiologies des thrombopénies

4.1. Les thrombopénies centrales

4.1.1. Thrombopénies constitutionnelles

☞ Sans thrombopathie marquée

- La thrombopénie de May-Hegglin
- Le syndrome de Fechtner
- Le syndrome de Sébastian
- Le syndrome d'Epstein
- La thrombopénie avec aplasie radiale
- Des thrombopénies liées à des mutations du récepteur c-Mpl de la thrombopoïétine
- D'autres thrombopénies familiales diverses.

☞ Avec thrombopathie marquée :

- Le syndrome de Bernard-Soulier
- la maladie de Von Willebrand de type plaquettaire
- Le syndrome de Montréal

- Le syndrome des plaquettes grises
- les autres thrombopathies par atteintes des granules alpha (la thrombopénie Paris-Trousseau, le syndrome de Québec)
- Le syndrome de Wiskott-Aldrich

Ces thrombopénies constitutionnelles sont extrêmement rares voire exceptionnelles. Leur diagnostic permet d'effectuer une enquête familiale élargie, avec dans certains cas un diagnostic anténatal, et de faciliter le diagnostic différentiel avec d'autres thrombopénies plus fréquentes, comme le purpura thrombotique auto-immun.

Sur le plan thérapeutique, leur diagnostic précoce permet d'adopter des règles visant à diminuer l'allo-immunisation plaquettaire.[33]

4.1.2. Thrombopénies acquises

4.1.2.1 Insuffisances médullaires ou aplasies

- Idiopathiques
- Virales (VIH, hépatites...) ou bactériennes sévères
- Toxiques (dérivés du benzène)
- Irradiation
- Médicamenteuses : chloramphénicol, chimiothérapies anticancéreuses.

4.1.2.2 Envahissement médullaire

- Hémopathies malignes (leucémie aiguë, leucémie lymphoïde chronique, myélome multiple, lymphome)
- Métastases de tumeurs solides.
- Idiopathique dans la myélofibrose maligne ou dans les syndromes myéloprolifératifs chroniques
- Leucémie à tricholeucocytes, mastocytose systémique

4.1.2.3 Thrombopoïèse inefficace

- Carence en vitamine B12 et acide folique, profonde et prolongée (rare)
- Myélodysplasie. [34-36]

4.2. Les thrombopénies périphériques

La production médullaire est normale, mais les plaquettes sont détruites, consommées ou séquestrées ;

4.2.1. Consommation excessive des plaquettes

- Toute splénomégalie (hépatopathie avec hypertension portale, parasitose, myélofibrose).
- CIVD quelle qu'en soit l'étiologie (infectieuse, toxique, immunologique, hématologique), coagulation intravasculaire localisée (prothèse cardiaque, angiomes : syndrome de Kasabach-Merritt).
- Infections virales ou bactériennes sévères, avec ou sans CIVD.
- Microangiopathies thrombotiques (MAT) regroupant le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), également appelé syndrome de Moschowitz
- Syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou syndrome de Gasser
- HELLPS syndrome (hemolysis, elevated liver enzyme, low platelet count).[37]

4.2.2. Destruction immunologique

- **Auto-anticorps** : purpura thrombotique auto-immun (PTAI), purpura thrombocytemique chronique de l'adulte (PTIC), purpura thrombocytopenique idiopathique au cours de la grossesse, lupus érythémateux disséminé, syndrome des antiphospholipides, syndromes lymphoprolifératifs, déficits immunitaires
- **Allo-anticorps** : thrombopénie fœto-maternelle, purpura post-transfusionnel
- **Immuno-allergiques** : de nombreux médicaments peuvent être responsables de thrombopénies immunologiques, les plus fréquents étant : chlorothiazide, dipyridamole, dyphényl-hydantoïne, héparines, ticlopidine, triméthoprime-sulfaméthoxazole. La responsabilité d'un médicament est affirmée dans 10% des thrombopénies immunologiques. Leur début est brutal, avec généralement un syndrome hémorragique important. La thrombopénie se corrige en moins de 15 jours après l'arrêt du médicament.

4.2.3. Par destruction ou perte non immunologique

- Hémorragies ou hémolyses intenses avec transfusions massives de culots globulaires sans transfusion de plaquettes
- Exsanguino-transfusion.[38]

Chapitre III :

Les pseudothrombopénies

III. LES PSEUDOTHROMBOPENIES

Les automates actuels d'hématologie cellulaire analysent les échantillons sanguins avec une cadence élevée et fournissent des résultats précis et reproductibles. Cependant, diverses conditions préanalytiques ou inhérentes au principe d'analyse des paramètres de l'hémogramme sont susceptibles d'induire des résultats erronés. Le biologiste doit connaître ces diverses situations autant que le principe de fonctionnement de son automate afin d'éviter de rendre des résultats erronés qui peuvent avoir un impact non négligeable pour le patient et sa prise en charge. Dans le cadre des fausses thrombopénies, l'agrégation plaquettaire induite in vitro en présence d'EDTA est la situation préanalytique la plus fréquente. Les automates les plus performants gèrent assez bien cette situation, en signalant son existence par un ou plusieurs messages d'alerte. [39]

1. Définition des pseudothrombopénies

La fausse thrombopénie ou pseudothrombocytopénie (PTE) est un artéfact de laboratoire, relativement rare, de découverte souvent fortuite. Elle est le résultat de la présence de PLT de taille anormale en grand pourcentage ou de l'agglutination des PLT in vitro en présence de l'EDTA utilisé pour le comptage des cellules sanguines par les automates. Et par conséquent les agrégats plaquettaires formés ne peuvent pas être comptés par les automates. Les antigènes plaquettaires, modifié ou exposé par l'action combinée de l'EDTA et de la basse température, interagissent avec des auto-anticorps antiplaquettaires et forment des agrégats plaquettaires. Les anticorps antiplaquettaires du PTE sont associés aux anticorps antiphospholipides, mais leur présence n'a aucune implication clinique.[40]

2. La prévalence des pseudothrombopénies

Elle varie selon les études de 0,07 à 0,20 % des échantillons sanguins analysés dans la population générale et serait de 0,1 à 2,0 % pour les patients hospitalisés[41, 42]. L'incidence est assez superposable chez les hommes, les femmes et les patients âgés. Les PLT des syndromes myéloprolifératifs seraient plus sensibles à l'agrégation, indépendamment d'une thrombopathie associée. La PTE est transitoire (disparition en quelques mois) ou permanente, et peut parfois augmenter en intensité pendant l'hospitalisation.[39]

3. Les circonstances de survenue des pseudothrombopénies

Dans la littérature, certains auteurs rapportent que la pseudothrombopénie est plus fréquemment observée chez des patients atteints de maladies auto immunes, de maladies inflammatoires chroniques, d'infections virales et bactériennes, de syndromes métaboliques et de maladies néoplasiques, ainsi qu'après une greffe de cellules souches allogéniques en conséquence ces auteurs pensent qu'il y a une relation possible entre la survenue du phénomène et ces maladies. Cependant, la PTE survient aussi chez les sujets sains et les situations cliniques confirment qu'elle n'est pas causée par une maladie particulière ou l'utilisation de médicaments spécifiques, bien que des cas rares de pseudothrombocytopenie soient survenus après l'administration d'acide valproïque, d'olanzapine, d'insuline ou de lévofloxacine.[43]

Chez certains sujets sains, la présence de PTE peut être diagnostiquée pendant plus de 20 ans. Ainsi, la découverte d'auto anticorps antiplaquettaires chez un sujet apparemment en bonne santé n'indique pas un risque plus élevé pour le développement futur d'une maladie particulière ou d'une maladie auto immune manifeste.[44,45]

Il est à noter que, en de rares occasions, une pseudothrombocytopenie peut être associée à une thrombocytopenie auto immune chronique, dans laquelle la PTE diminue artificiellement la numération plaquettaire. L'occurrence familiale n'a jamais été documentée, mais un cas de pseudothrombocytopenie congénitale transitoire due à la transmission transplacentaire d'anticorps IgG d'une mère à l'enfant a été décrit.[43]

4. Les implications cliniques des pseudothrombopénies

Au laboratoire, il paraît indispensable de dépister cet artéfact afin d'éviter le déclenchement de la démarche diagnostique et/ou thérapeutique mise en œuvre devant une thrombopénie. S'il est en général facilement évoqué dans les formes isolées, il est certainement sous-estimé chez les patients présentant des causes potentielles de thrombopénie vraie. Seule la mise en œuvre d'une démarche systématique, appliquée devant toute thrombopénie constatée sur une numération automatisée, permettra leur dépistage.

La pseudothrombocytopenie ne présente pas de risque hémorragique ou thrombotique pour le patient. Un sujet atteint de pseudothrombocytopenie ne nécessite pas de surveillance clinique ou des bilans de suivi pour cette affection complètement bénigne. La seule implication clinique réside dans son manque de reconnaissance, qui pourrait potentiellement entraîner une transfusion plaquettaire inappropriée, des tests supplémentaires inutiles et des retards dans les procédures diagnostiques ou thérapeutiques. [45, 46]

5. Classification des pseudothrombopénies

5.1. Les pseudothrombopénies EDTA-dépendantes

5.1.1. L'agrégation plaquettaire liée à l'EDTA

La reconnaissance du phénomène d'agrégation plaquettaire sur des frottis sanguins colorés au MGG n'est pas toujours évidente. En effet, la présence de quelques plaquettes regroupées en îlots ou en petits agrégats (5 à 20 plaquettes) au sein de nombreuses plaquettes libres et isolées ne peut être considérée comme un véritable phénomène d'agrégation et n'entraîne pas de pseudothrombopénies au comptage automatique.

Si la présence de macroagrégats est de diagnostic évident, surtout en queue de frottis, les microagrégats dispersés sur l'ensemble du frottis, dans la zone d'étalement intermédiaire ou épaisse, sont plus difficiles à reconnaître au premier coup d'œil. Pour que ce phénomène soit authentique, il faut que ces microagrégats plaquettaires soient les uniques représentants des plaquettes sur le frottis.[44]

A. Mécanisme de l'agrégation

Les études de transfert ont montré que le plasma EDTA des patients présentant une PTE était capable d'agréger les PLT de tous les patients sauf celles de la thrombasthénie de Glanzman, suggérant que le complexe glycoprotéique α IIb/ β IIIa, récepteur du fibrinogène, était impliqué dans la PTE[47, 48]. Un anticorps monoclonal a d'ailleurs été produit qui reconnaît un épitope sur l'intégrine α IIb/ β IIIa, dont l'accessibilité est augmentée lors du contact des PLT avec l'EDTA [49]. La thrombopénie artéfactuelle qui apparaît fréquemment chez les patients traités par des antagonistes des récepteurs α IIb/ β IIIa en est une autre preuve indirecte [50]. Le mécanisme le plus vraisemblable de la PTE est qu'un site antigénique normalement caché (cryptique) du complexe α IIb/ β IIIa est modifié ou exposé seulement en présence d'EDTA. Bien que plutôt restreinte à l'EDTA, l'agrégation des PLT se produit parfois avec d'autres anticoagulants, dont le citrate trisodique [47]

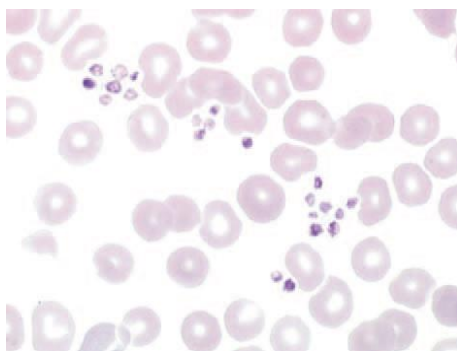


Figure 02 : Agrégats de plaquettes sur frottis sanguin (adulte sain) [39].

B. Pourquoi ces anticorps apparaissent-ils ?

Ce sont des IgG (33 à 50 % des cas), des IgM (10 à 63 % des cas), ou des IgA (4 à 40 % des cas) selon les séries de la littérature [51, 52]. Les hypothèses d'auto-anticorps naturels ou d'anticorps acquis résultant de la destruction de PLT après septicémie, toxémie gravidique, microangiopathie thrombotique, syndromes myélodysplasiques, ou apparaissant pendant l'hospitalisation et particulièrement après une infection, ont été souvent évoquées [51].

Ces anticorps sont associés dans la plupart des cas à des anticorps antiphospholipides qui pourraient eux aussi intervenir dans le mécanisme d'agrégation. La PTE peut parfois s'amplifier à froid ou au contraire être plus intense à 37 °C. La cinétique de l'agrégation est rapide, débutant dans les minutes qui suivent le contact du sang avec l'EDTA, devenant maximale soit après quelques minutes, soit, au contraire, après quelques heures. [53].

5.1.2. Satellitisme des plaquettes autour des leucocytes

Il s'agit d'un aspect morphologique rare à l'origine des causes de pseudothrombopénies à l'EDTA dont la fréquence est estimée à 0,008 %. Le satellitisme des plaquettes ou leur disposition régulière en rosette autour d'un globule blanc est une image facile à identifier

Le globule blanc concerné par ce satellitisme est presque toujours un polynucléaire neutrophile [44], mais il peut s'agir de façon exceptionnelle de lymphocytes atypiques[54], de polynucléaires basophiles[55] ou de monocytes[56]

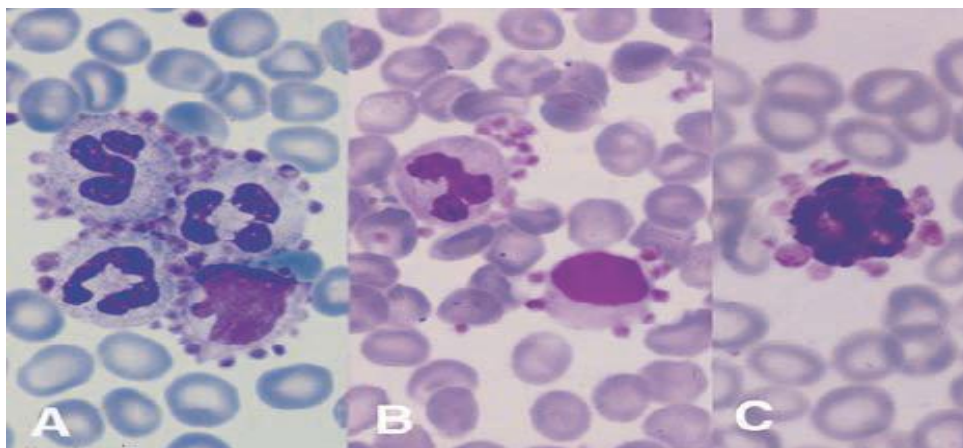


Figure 03 : Images illustrant le satellitisme plaquettaire autour des PNN et un monocyte (A), un PNN et un lymphocyte (B) et un basophile (C) [39]

Quelque fois reliée à un processus auto-immun mais, dans la plupart des cas, sans relation avec une maladie spécifique. Sa signification clinique n'est pas connue. Il a été montré à plusieurs reprises, en utilisant soit des anticorps anti-Ig soit avec une absorption spécifique de

chacune des fractions d'Ig, que les IgG étaient le médiateur, avec ou sans participation des récepteurs Fc gamma des PNN. L'implication du complexe glycoprotéique α IIB/ β IIIa de la membrane des PLT a été également avancée, tout comme la présence d'auto-anticorps IgG dirigés contre un antigène cryptique commun au complexe α IIB/ β IIIa des PLT et au récepteur Fc gamma III (CD16) des PNN et possiblement démasqué en présence d'EDTA, ou la présence de cryofibrinogène ou de thrombospondine[39].

5.1.3. Agrégation mixte neutrophiles-plaquettes en présence d'EDTA

L'observation de volumineux agrégats contenant des centaines de PLT et des centaines de PNN a été rapportée, semblant être le point final d'un processus initié par un satellitisme classique des PLT autour des PNN [37, 38]. Ces amas mixtes PLT-PNN sont suffisamment volumineux pour ne pas être détectés en tant que tels par les AHC et, dans les observations rapportées, on note une diminution de la numération des PLT (soit avec un résultat restant au sein de valeurs normales soit un (pseudo) thrombopénie) et une tendance à la leucopénie[39, 45]. L'examen au faible grossissement du frottis sanguin est nécessaire devant chaque échantillon leucopénique d'un patient inconnu ou lorsque le nombre des leucocytes chute fortement : il faut avoir à l'esprit ce type d'artéfact et rechercher les amas, peu nombreux mais parfois très volumineux, localisés plutôt aux extrémités des frottis. [39].

5.2. Les pseudothrombopénies non EDTA-dépendantes

Les principales causes sont :

5.2.1. Causes liées aux erreurs à la phase préanalytique

- Un décompte anormalement bas peut être retrouvé dans les échantillons sanguins dilués par prélèvement à proximité d'une perfusion ou sur une voie de perfusion. Indépendamment de l'anticoagulant utilisé, une augmentation de sa concentration dans l'échantillon (défaut de sang par ponction veineuse difficile ou prélèvement difficile comme chez le nouveau-né) ou un retard entre le prélèvement et l'analyse peuvent modifier le volume des PLT, conduisant à une difficulté de l'automate à générer une courbe lissée ou à retrouver précisément les critères habituels de définition des PLT.
- Un retard de contact entre le sang prélevé et l'anticoagulant ou une difficulté de ponction peuvent initier la coagulation et générer des amas plaquettaires.

- Un prélèvement sous vide trop rempli a été rapporté comme pouvant générer des anomalies des divers paramètres de la numération globulaire, et notamment, une numération plaquettaire basse par la difficulté à homogénéiser l'échantillon de manière adéquate (un retour progressif à des résultats proches des résultats réels était obtenu après plusieurs aspirations).[39,44]

5.2.2. Causes liées à l'appareillage

La présence d'amas de PLT est plus ou moins facilement détectée selon les AHC et selon la taille des amas, les AHC les plus simples ayant un faible niveau de détection. Lorsque l'agrégation est d'intensité modérée, avec un mélange de PLT libres et de petits amas (2-5 PLT), ces derniers sont considérés comme de grosses PLT. L'histogramme plaquettaire montre un excès d'éléments de grande taille, sans retour à la ligne de base vers 20 fL, et la séparation PLT-GR est difficile.

Des messages d'alerte peuvent être générés : « présence de grandes plaquettes », « plaquettes géantes » ou « suspicion d'amas plaquettaires » (ou équivalents). Lorsque les amas sont plus volumineux, l'histogramme plaquettaire ne visualise que les PLT non agrégées, et les messages d'alerte issus de cet histogramme sont liés à la difficulté d'analyse de ces quelques PLT résiduelles : « absence de courbe lissée », « résultats bruts », « thrombopénie ».(Annexe II)

Par contre, les amas volumineux vont perturber l'analyse des leucocytes et sont visualisables sur l'histogramme biparamétrique de la formule leucocytaire (taille/un autre critère,variable selon l'AHC) sous la forme de particules anormales non leucocytaires. Des messages d'alerte apparaissent : « agrégats de plaquettes », « plaquettes de grande taille ou géantes », ou un message équivalent lié à l'existence de particules de taille modérée (parfois érythroblastes).Les AHC qui réalisent la numération et la formule leucocytaires sur le même canal seront moins sensibles à la détection des amas de PLT, et une observation attentive des histogrammes sera d'autant plus nécessaire. Les AHC les plus simples qui ne réalisent pas de formule, même approchée, visualisent mal les agrégats. Avec les AHC qui analysent les particules du canal de numération leucocytaire en trois populations (lymphocytes, monocytes, granulocytes) (Beckman, Horiba Medical), les amas de PLT apparaissent sous forme d'un pic de particules de petite taille : les messages d'alerte générés sont souvent communs aux trois principaux artéfacts interférant dans cette région, c'est-à-dire les agrégats de PLT, les PLT géantes et les noyaux d'érythroblastes[39,44]

5.2.3. Causes liées à l'échantillon

5.2.3.1 Les plaquettes géantes

Dans les conditions normales et dans diverses situations pathologiques, quelques PLT ont un volume plus élevé, et, pour cette raison, les AHC considèrent que les PLT peuvent avoir un volume atteignant 36, 40, voire même 60 fL. Il faudra avoir à l'esprit que dans certaines pathologies (syndromes myéloprolifératifs ou myélodysplasiques), quelques PLT peuvent présenter une taille (volume) identique ou proche de celle des leucocytes et ne sont pas identifiées comme telles, ou peuvent être incluses dans le décompte des GR ou/et celui des leucocytes.[40]

5.2.3.2 Les microplaquettes

Tout comme les PLT géantes, Les microplaquettes ou microthrombocytes peuvent aussi être exclues par les compteurs de cellules automatisés par le même mécanisme (en raison de la taille prédéfinie des particules) et produire un taux de PLT sous-estimé voire une pseudothrombopénie si elles représentent un grand pourcentage des PLT[40]

5.2.4. Causes liées à l'anticoagulant autre que l'EDTA

5.2.4.1 L'héparine

L'héparine est déconseillée dans la numération plaquettaire, car elle produit très rapidement une importante agglutination des PLT, majorée par une forte agitation, donnant une fausse thrombopénie. On ne connaît pas l'influence de l'héparine sur le complexe IIb/IIIa qui doit encore être étudiée. Des frottis colorés faits à partir de ce sang ne sont pas satisfaisants.[40]

5.2.4.2 L'hirudine

L'hirudine peut aussi induire une PTE et donc ne peut pas être recommandée comme anticoagulant dans la différenciation des numérations plaquettaires faussement faibles. Cependant, il peut être bénéfique dans l'identification du vrai compte des PLT chez les patients souffrant à la fois de la PTE EDTA et citrate- dépendante[40,57].

5.2.5 Causes liées à la prise de médicament

Une nouvelle cause iatrogène de pseudothrombocytopénie a été décrite en relation avec l'utilisation thérapeutique de médicaments spécifiquement conçus pour modifier la fonction plaquettaire. Ainsi, une pseudothrombocytopénie a été observée après l'administration d'abciximab, un fragment Fab chimérique qui se lie à la sous-unité β_3 du complexe plaquettaire

GPIIb-IIIa et qui est utilisé pour prévenir les complications thromboemboliques chez les patients subissant des interventions coronariennes percutanées. Ce phénomène se produit généralement dans le sang prélevé sur EDTA et, dans de rares cas, dans le prélèvement citraté.

Il a été rapporté que la pseudothrombocytopénie survient chez environ 2% des patients traités par l'abciximab. Cependant, en adoptant les critères d'un nombre de plaquettes inférieur à 150 G / L ou une diminution de la valeur initiale supérieure à 40% pour définir la thrombocytopénie, Schell et al. ont trouvé une incidence beaucoup plus élevée : sur 66 sujets traités par l'abciximab, 26 (39%) ont développé une thrombocytopénie et 18 (27%) ont eu une pseudothrombocytopénie. Indépendamment du mécanisme, la distinction entre pseudothrombocytopénie et thrombocytopénie vraie chez les patients traités par abciximab est critique: si une thrombocytopénie vraie est présente, le médicament doit être arrêté et les concentrés plaquettaires peuvent être transfusés; tandis que si une pseudothrombocytopénie est détectée, le risque d'hémorragie n'est pas augmenté, la thérapie antithrombotique et antiplaquettaire peut être poursuivie et des procédures invasives peuvent être pratiquées[45]

5.2.6 Autres causes de la pseudothrombopénie non EDTA-dépendante

☞ Le myélome multiple

Le lien entre le myélome multiple et la survenue d'une fausse thrombopénie est rapporté par REED et al pour un cas qui présente une anémie hémolytique auto-immune associée à une pseudothrombopénie.[42]

☞ Le nouveau-né prématuré

Chiurazzi et al ont rapporté un cas d'un nouveau-né présentant une variété de pseudothrombocytopénie EDTA dépendante transitoire, probablement acquise par voie transplacentaire, mais la survenue du phénomène parmi les nourrissons prématurés reste inconnue jusque-là.[41]

☞ Changement de l'insulinothérapie

Le patient dans ce cas rapporté par BEYAN et al ne prenait aucun autre médicament. Il n'y avait pas de conclusion remarquable sur l'examen physique. Ils ont observé une thrombocytopénie avec EDTA et des échantillons de sang hépariné, mais pas de thrombocytopénie avec un échantillon citraté.[58]

PARTIE PRATIQUE

« Le fondement de la théorie ,
c' est la pratique »

Mao Tsé-Toung

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Rappel des objectifs

Objectif principal

- ✓ Etudier le profil épidémiologique, clinique, préanalytique et analytique des fausses thrombopénies au laboratoire d'hémostase au CHU de TIZI OUZOU du 04/12/2017 au 04/04/2018.

Les objectifs secondaires

- ✓ Estimer le taux d'incidence de l'anomalie dans la population d'étude,
- ✓ Mettre le point sur les différentes situations conduisant à une fausse thrombopénie,
- ✓ Montrer l'intérêt du résumé clinique en tant qu'outil d'orientation,
- ✓ Vérifier l'efficacité du citrate en tant qu'anticoagulant le mieux adapté pour moins d'agrégats donc plus de précision dans la numération plaquettaire.

1. Cadre d'étude

L'étude a été réalisée au laboratoire d'hémostase du centre hospitalo-universitaire CHU NEDIR Mohamed de Tizi Ouzou.

Toute la pratique s'est déroulée au sein de l'unité de cytologie (analyse biologique des prélèvements, la confection ainsi que la lecture des frottis sanguins).

2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive portant sur 51 cas présentant une fausse thrombopénie diagnostiquée au laboratoire d'hémostase du CHU de Tizi Ouzou sur une période de quatre mois (du 04/12/2017 au 04/04/2018).

3. Population d'étude

Cette étude a porté sur des patients hospitalisés ainsi que des externes, incluant les deux sexes.

3.1 Critères d'inclusion

Cette étude descriptive a concerné tous les prélèvements acheminés au laboratoire, provenant de patients hospitalisés dans les différents services ou consultant à titre externe au sein du CHU. Les patients ont été sélectionnés selon les critères suivants :

- Présentant un taux de plaquettes < **150 G/L**
- Absence de tendance hémorragique
- Présence d'alarme sur l'automate indiquant une distribution anormale des plaquettes
- Bilan d'hémostase normal

3.2 Critères d'exclusion

Les cas exclus de notre étude étaient tous les cas ayant :

- Un taux de plaquettes > 150 G/L
- Des saignements
- Prise des médicaments induisant une thrombopénie
- Un prélèvement coagulé
- Un prélèvement sur tube citraté
- Des patients connus pour une vraie thrombopénie

4. Matériel de collecte et d'analyse des prélèvements

4.1 Contrôle de la conformité du prélèvement

Avant de lancer l'analyse, il faut s'assurer de la conformité du prélèvement par la vérification :

- La nature de l'anticoagulant.
- De l'identité du patient (elle doit être identique sur le tube et le résumé clinique)
- Le sang ne doit pas être dilué, ni hémolysé.
- La recherche d'un caillot par retournement, ne pas oublier de vérifier l'absence de micro caillots collés au bouchon.

4.2 Étapes analytiques

Tous les hémogrammes inclus dans notre étude sont issus de l'analyse d'échantillons de sang total prélevé dans un tube contenant un anticoagulant recommandé, l'EDTA . Un autre anticoagulant, le citrate, est utilisé.

Il est notamment indiqué pour confirmer la pseudothrombopénie.

4.3 Équipement technique

4.3.1 Automates (Annexe III)

- Automates d'hématologie : Advia 2120i, Sysmex XT-1800i.
- Automate de coloration : RAL STAINER.
- Microscope optique.

4.3.2 Réactifs

- CELLPACK (diluant permettant la mesure du nombre et de la taille des GR et des PLT).
- STROMATOLYSER-FB (FBA)
- STROMATOLYSER-4DL (FFD)

- STROMATOLYSER-4DS (FFS)
- SULFOLYSER
- RET SEARCH (II)
- CELLCLEAN
- LE KIT RAL 555

4.3.3 Consommables

- Portoirs.
- Compresse
- Les lames.
- Huile à immersion
- Les Embouts
- Micropipettes
- Les gants.

4.4 Analyse quantitative

L'hémogramme

Au niveau du laboratoire, la numération plaquettaire est effectuée par deux automates et selon les méthodes suivantes

- Focalisation hydrodynamique (détection par mesure de l'impédance),
- Cytométrie en flux (emploi d'un laser à semi-conducteur).

☞ Automates et principes d'analyse :

Les hémogrammes analysés dans notre étude ont été rendus par les hématimètres

ADVIA®2120 et **SYSMEX® XT-1800i**.

4.4.1 Automate Sysmex XT-1800i

C'est une technologie de numération optique des plaquettes par fluoro-cytométrie en flux.

Les anomalies quantitatives des plaquettes sont signalées par des alarmes de type (Q-flag) qui signifie PLT clumps ? Ou PLT C(s) ?

-Aggrég.PLQ ? + Thrombopénie

-Dist.PLQ anorm.

-PLT Distribution : non-retour à la ligne de base

4.4.2 Automate Advia 2120

Le principe du fonctionnement de l'ADVIA® 2120 est basé sur le principe du cytomètre de flux où la caractérisation des cellules repose sur une analyse bidimensionnelle de la lumière diffractée. Il émet un signal d'alarme pour les plaquettes de type : LPLT qui signifie la présence de grandes plaquettes ou des amas plaquettaires. L'intensité du signal est marqué par le signe +

- a) Absence de l'alarme LPLT signifie absence d'amas
- b) (+) signifie peu d'amas plaquettaires
- c) (+ +) signifie assez nombreux amas
- d) (+++) et plus signifie très nombreux amas ou agrégats plaquettaires.

4.5 Critères d'évaluation et de compréhension des hémogrammes

4.5.1 L'examen clinique

Le critère clinique évalué est l'absence d'hémorragie

4.5.2 Examen du frottis sanguin (Annexe IV)

Le frottis sanguin reste l'examen clé pour confirmer la thrombopénie. Une fois confectionné, la coloration du frottis se fait par l'automate RAL STEINER, cette dernière combine l'action de deux colorants neutres.

☞ Principe :

- Un colorant selon May-Grünwald qui est composé d'un colorant acide, l'éosine, et d'un colorant basique, le bleu de méthylène.
- Un colorant selon Giemsa qui est constitué, lui aussi, d'éosine et d'un autre colorant basique, qui est métachromatique et l'azur de méthylène.

Le premier colorant induit une coloration orthochromatique des éléments cellulaires auxquels il se fixe (couleur rose ou orange pour les éléments acidophiles due à l'éosine et couleur bleue ou violette pour les éléments basophiles et neutrophiles due au bleu de méthylène) alors que le deuxième colorant induit une coloration métachromatique (couleur rouge pour les éléments azurophiles).

Une fois coloré, la lecture du frottis sanguin se fait d'abord au grossissement x10 pour balayer la lame et vérifier sa qualité, puis au grossissement x 40 pour choisir la zone de la lecture qui

doit être entre les franges et le corps, pour une meilleure résolution on passe au grossissement x 100 à immersion afin d'apprécier la richesse, la taille, la morphologie et la dispersion des PLT.

4.6 Variables étudiés

Les paramètres étudiés dans notre travail sont :

- Les données épidémiologiques : l'âge, le sexe et l'origine géographique
- Les données cliniques : le stress, le motif d'hospitalisation, les antécédents pathologiques, la thérapie en cours.
- Les données préanalytiques : la difficulté du prélèvement, état de remplissage des tubes, présence ou absence d'homogénéisation.
- Les données paracliniques : NFS avec le taux de plaquettes, le VPM, le taux de plaquettes sur tube citraté.

4.7 Traitement et analyse des données

4.7.1 Recueil des données

Les données ont été collectées pour chaque patient sur une fiche de renseignement individuelle préétablie et enregistrée sur logiciel informatique pour analyse et interprétation.

4.7.2 Fiche de renseignement (Annexe V)

Après confirmation de la fausse thrombopénie par un frottis sanguin, on a procédé à un entretien avec le patient afin de collecter les renseignements nécessaires à l'aide de la fiche de renseignement.

4.7.3 La saisie et analyse statistique

- Les données collectées ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS.24.
- Les tableaux et les figures ont été réalisés à l'aide de Microsoft Office Excel 2013.

4.8 Considérations éthiques

Nos données ont été recueillies et traitées dans le strict respect du secret médical.

RÉSULTATS

Notre étude a porté sur 57 cas de fausses thrombopénies diagnostiquées au niveau du laboratoire d'hémiologie du CHU de Tizi Ouzou, durant une période de 4 mois (allant de 04/12/2017 au 04/04/2018). Tous les patients ont bénéficié d'un hémogramme (NFS +FS).

6 patients sont exclus par manque de données.

1- Étude épidémiologique de notre série :

1.1 Incidence des fausses thrombopénies au laboratoire d'hémiologie :

Au cours de cette période de 4 mois, **21500** prélèvements ont été analysés et seulement **57** patients ont présenté une fausse thrombopénie, soit une incidence globale de **0,26 %**. Par contre la fréquence de l'anomalie par rapport aux vraies thrombopénies est estimée à **21%**.

Le calcul de l'incidence a été réalisé selon la formule suivante : $Incidence = \frac{\text{nouveaux cas}}{\text{population total}}$

Patients	Effectif
Patients hospitalisés aux différents services durant la période d'étude	4755 cas
Prélèvement reçu au niveau l'unité cytologie	21500
Thrombopénies	266 cas
Fausses thrombopénies	57 cas
Fausses thrombopénies traitées	51 cas

Tableau 02 : représente les effectifs des prélèvements des patients hospitalisés, des prélèvements reçus, des thrombopénies et les fausses thrombopénies dans notre série

1.2 . Répartition des fausses thrombopénies selon le sexe :

L'anomalie plaquettaire survient d'une façon équitable aussi bien chez les hommes que chez les femmes avec respectivement 51% et 49%, soit une sex-ratio homme /femme de 1,04.

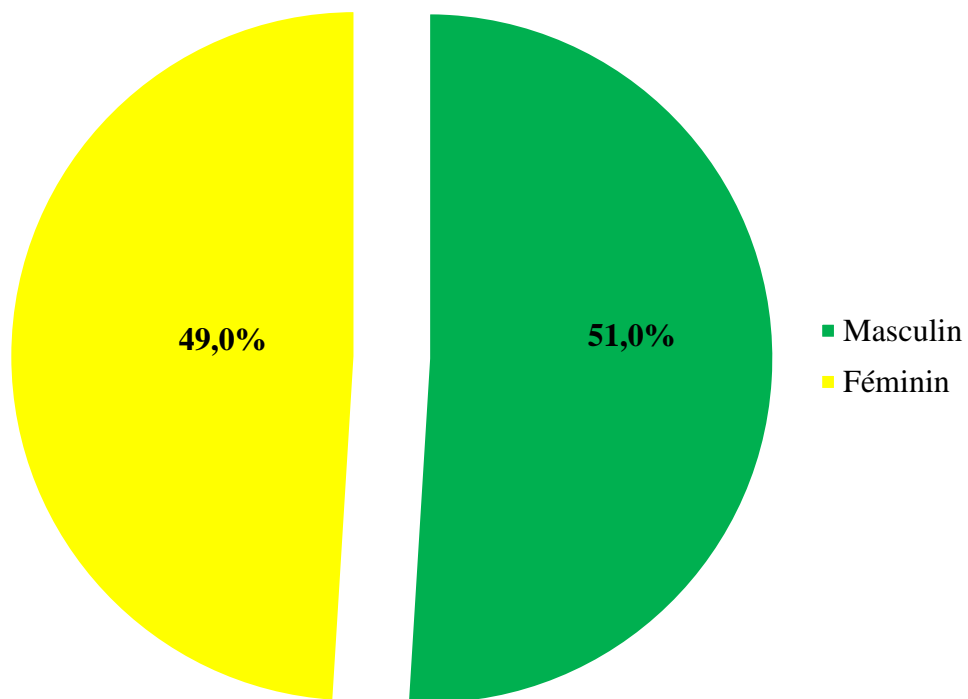


Figure 04 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le sexe

1.3 . Répartition des cas selon les tranches d'âge :

L'âge moyen était de 44 ± 23 ans avec des extrêmes allant de **4** à **87ans**. La tranche d'âge [28-40] ans était la plus représentée avec **25,5%**.

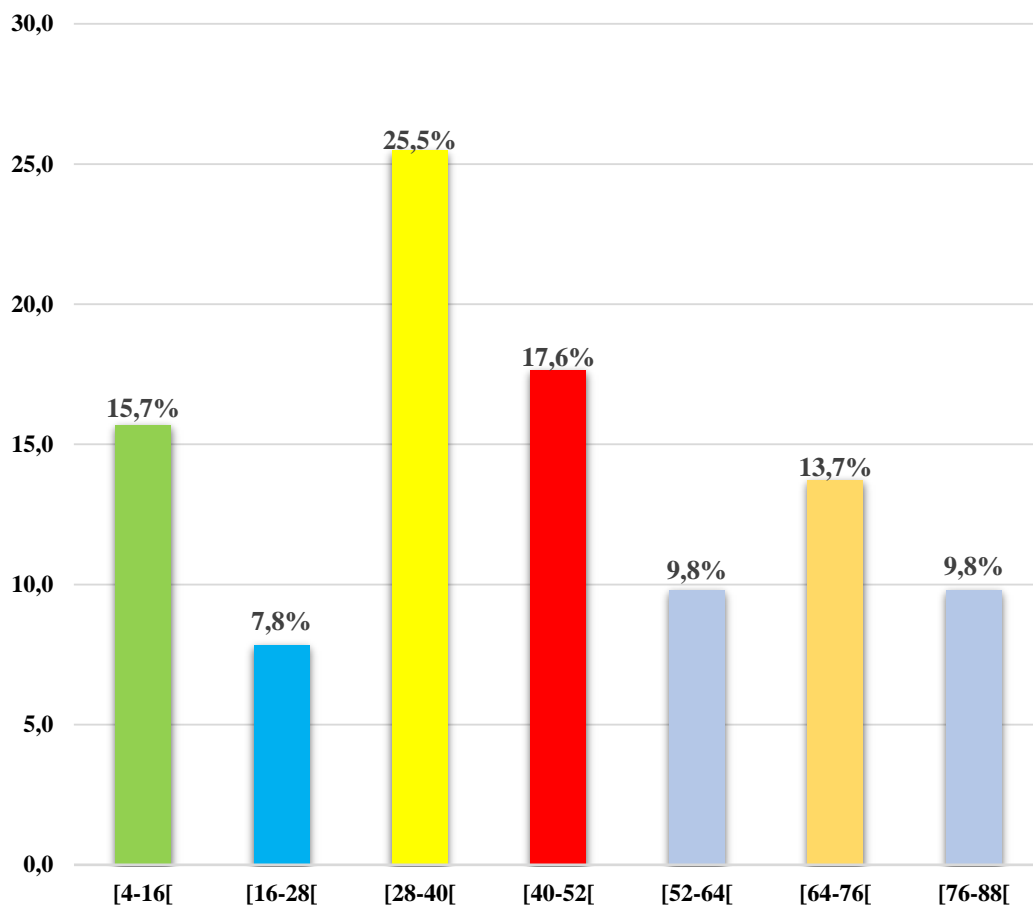


Figure 05 : Représentation graphique de la répartition des cas selon les tranches d'âge.

1.4 .Répartition des cas selon le sexe et l'âge :

Les fausses thrombopénies sont plus fréquentes chez les femmes ayant un âge inférieur à **40ans** avec un pourcentage cumulé de 31.37 %.

Les fausses thrombopénies sont plus fréquentes chez les hommes ayant un âge \geq **40ans** avec un pourcentage cumulé de 33.32 %.

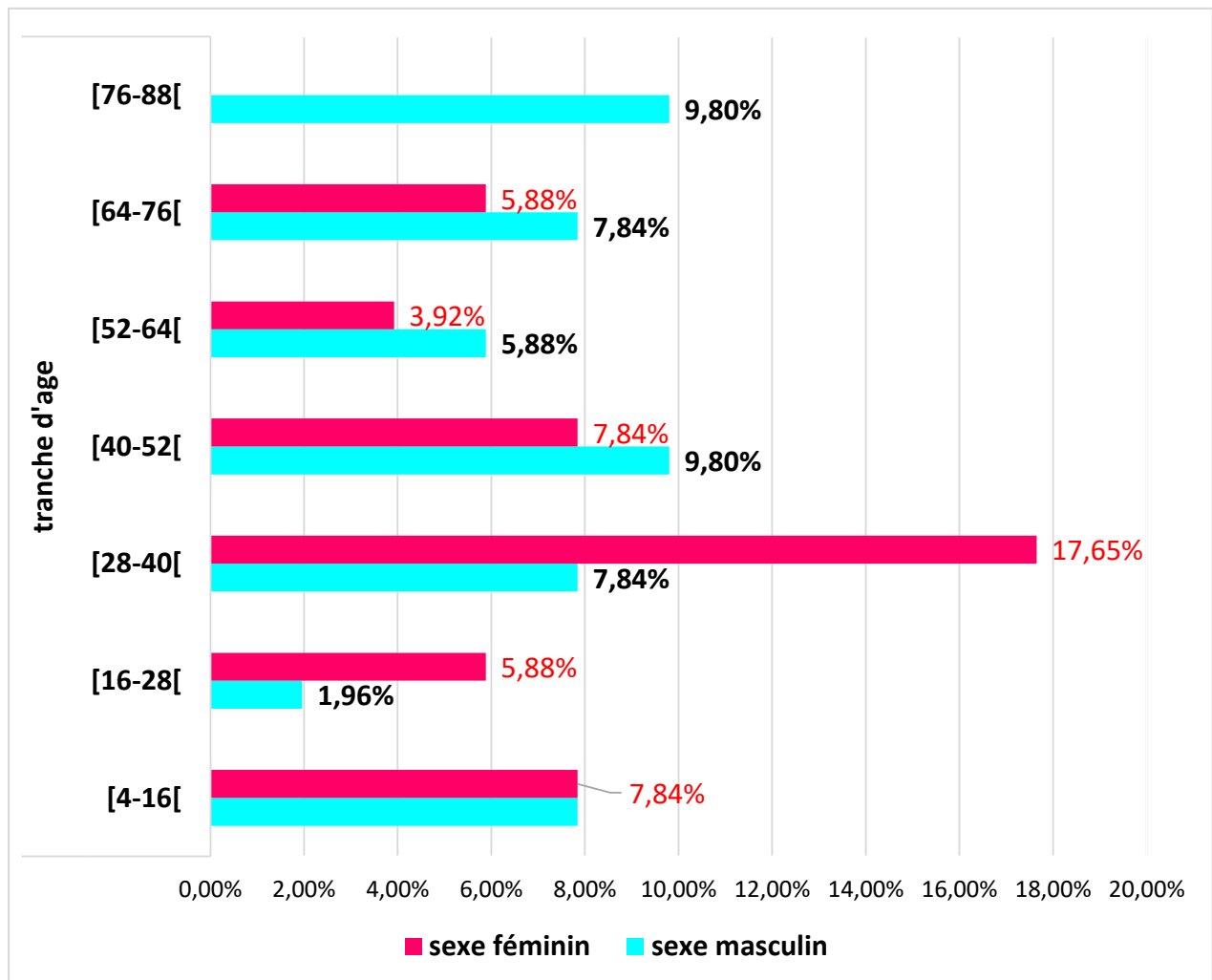


Figure 06 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le sexe et les tranches d'âge.

1.5. Répartition des patients selon l'origine géographique :

La majorité (72,5%) des cas ayant une fausse thrombopénie sont originaire de la Wilaya du Tizi Ouzou.

Origine géographique	Fréquence	Pourcentage (%)
Tizi Ouzou	37	72,5%
Alger	1	2,0%
Boumerdes	3	5,9%
Bejaia	1	2,0%
Bouira	5	9,8%
Autres	4	8,0%
Total	51	100%

Tableau 03 : Distribution des cas selon l'origine géographique.

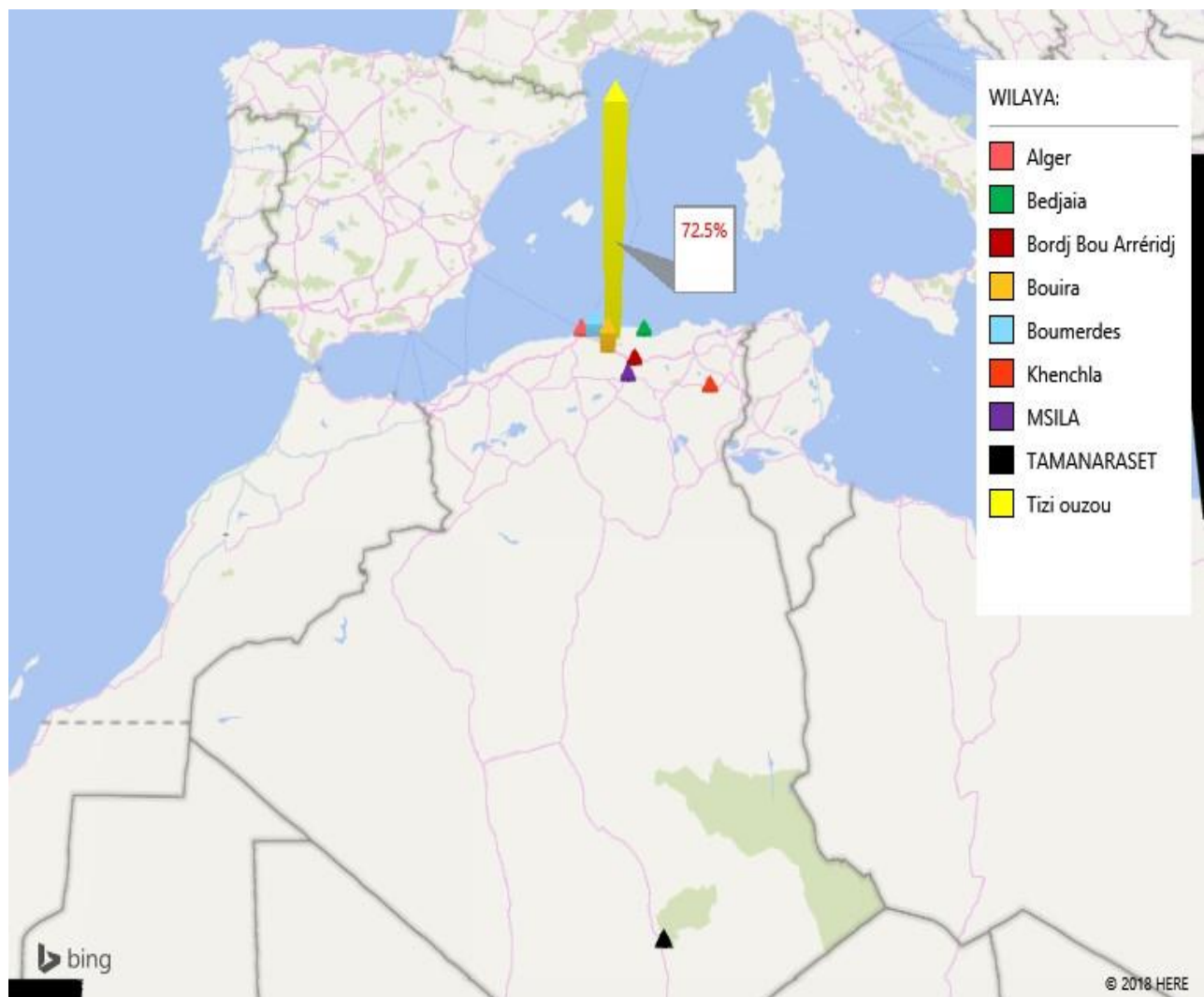


Figure 07 : Cartogramme représentant la distribution des patients suivant l'origine géographique.

1.6 Répartition des patients selon le service de consultation :

29,4% des cas de fausse thrombopénie sont diagnostiqués chez **les externes** suivis par 13,7% chez les patients hospitalisés au **PU Médical** et 11,8% chez les **hémodialysés**.

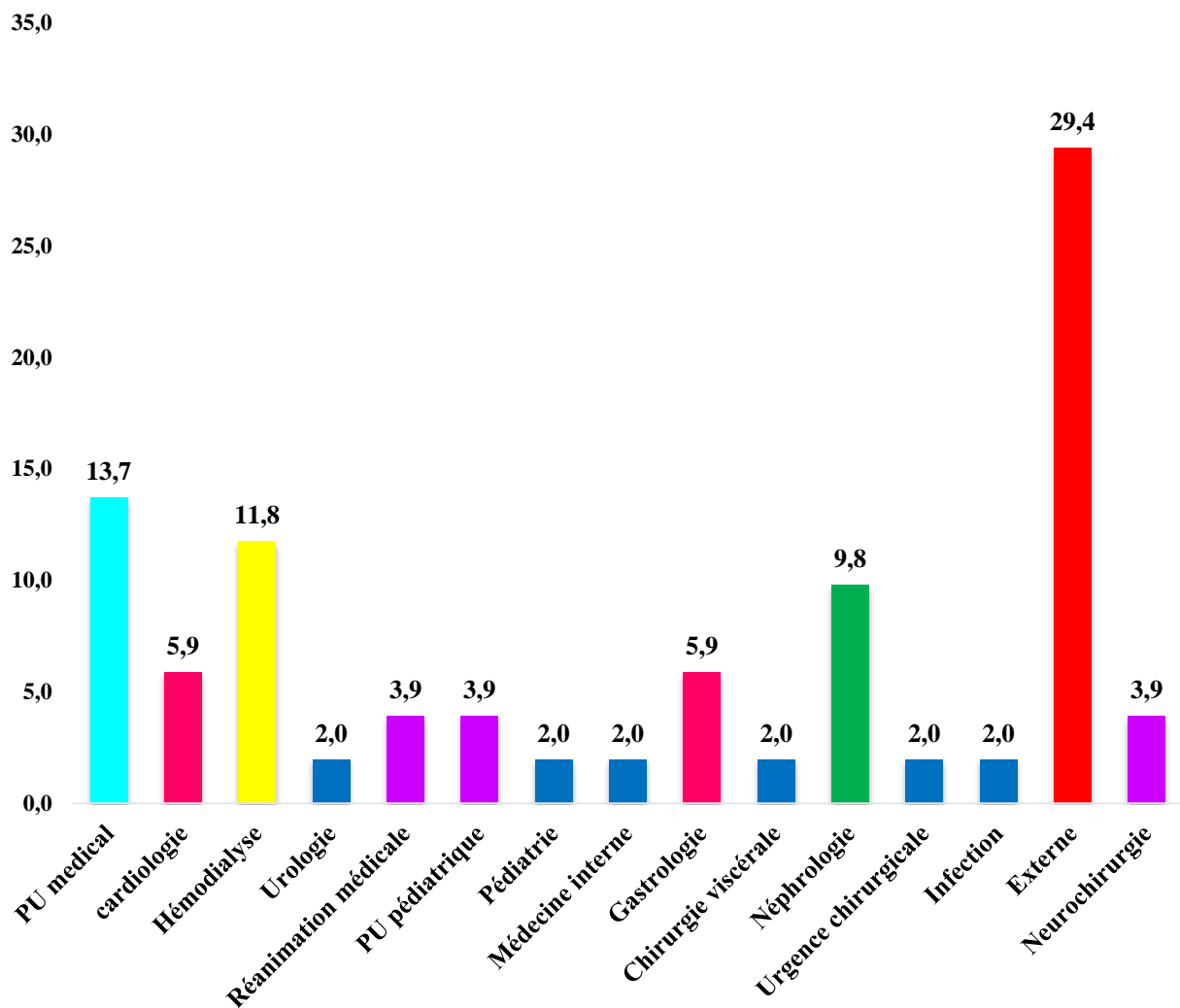


Figure 08 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le service de consultation.

1.7 Répartition des cas selon le sexe et le service de consultation :

On constate une prédominance masculine chez les patients hospitalisés au pavillon des urgences médicales et les patients hémodialysés avec un pourcentage de **11.76%**.

Pour les externes, il y a une prédominance féminine, **23.53%** des fausses thrombopénies traitées.

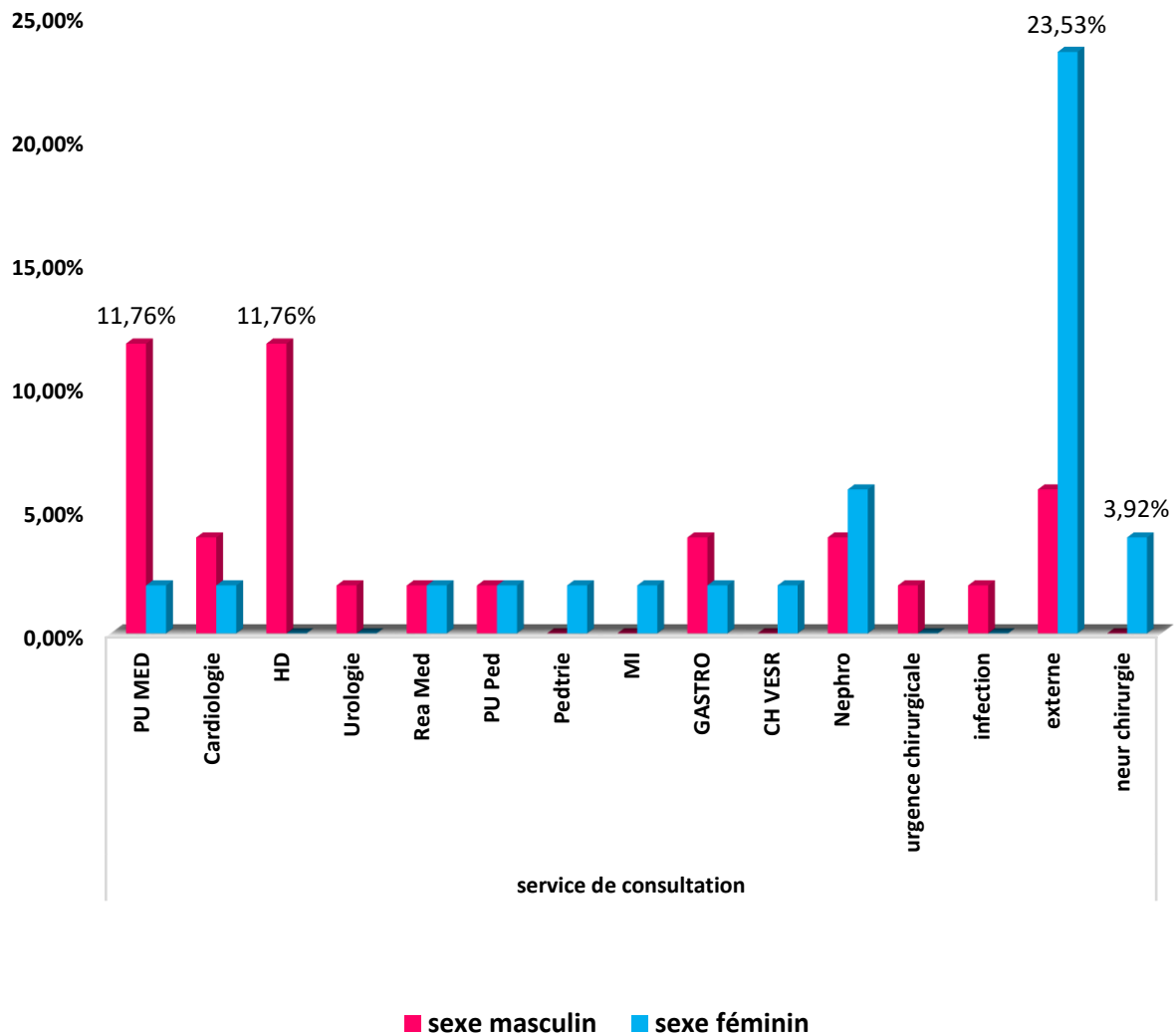


Figure 09 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le sexe et le service de consultation.

2. Étude clinique de nos patients :

2.1 Distribution de fausse thrombopénie selon les antécédents transfusionnels :

Plus de **deux tiers** (66,7%) des cas n'ont pas d'antécédents transfusionnels.

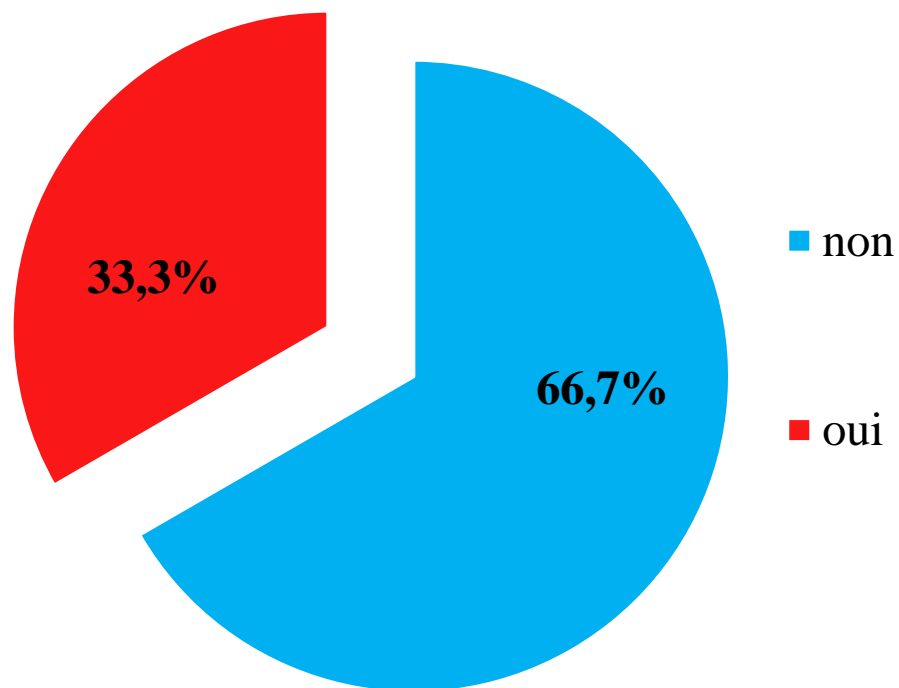


Figure 10 : Représentation graphique de la fréquence de fausse thrombopénie chez les malades transfusés et non transfusés.

(76,47%) des patients transfusés ont reçu des concentrés globulaires (CG).le reste des patients, 24 % ont reçu des concentres plaquettaires standards (CPS).

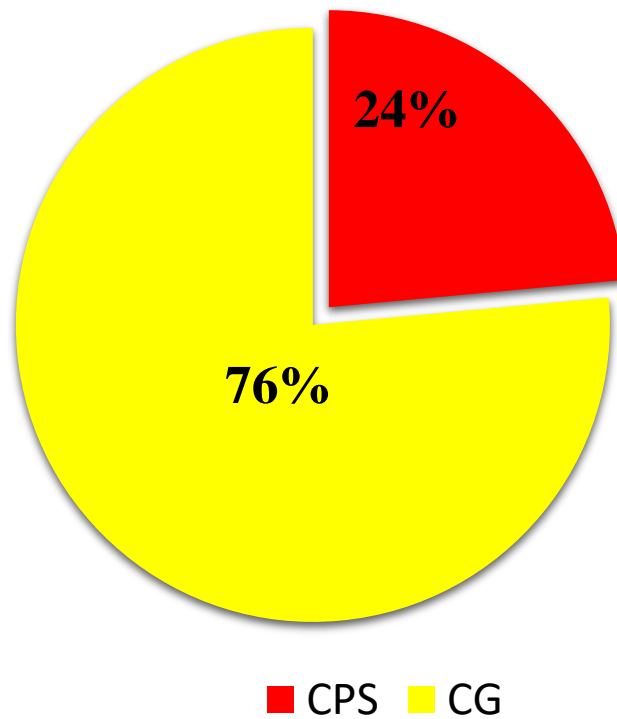


Figure 11 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les produits sanguins labiles utilisés pour la transfusion.

2.2 Distribution des fausses thrombopénies selon les antécédents pathologiques :

Plus d'un tiers (37,3%) des patients étaient hypertendus, (29,4%) de cas atteint d'infection virale et/ou bactérienne. Le diabète sucré, la tuberculose, le traumatisme aigu et les maladies inflammatoires chroniques viennent en troisième position avec des pourcentages allant de 2% à 9,8%.

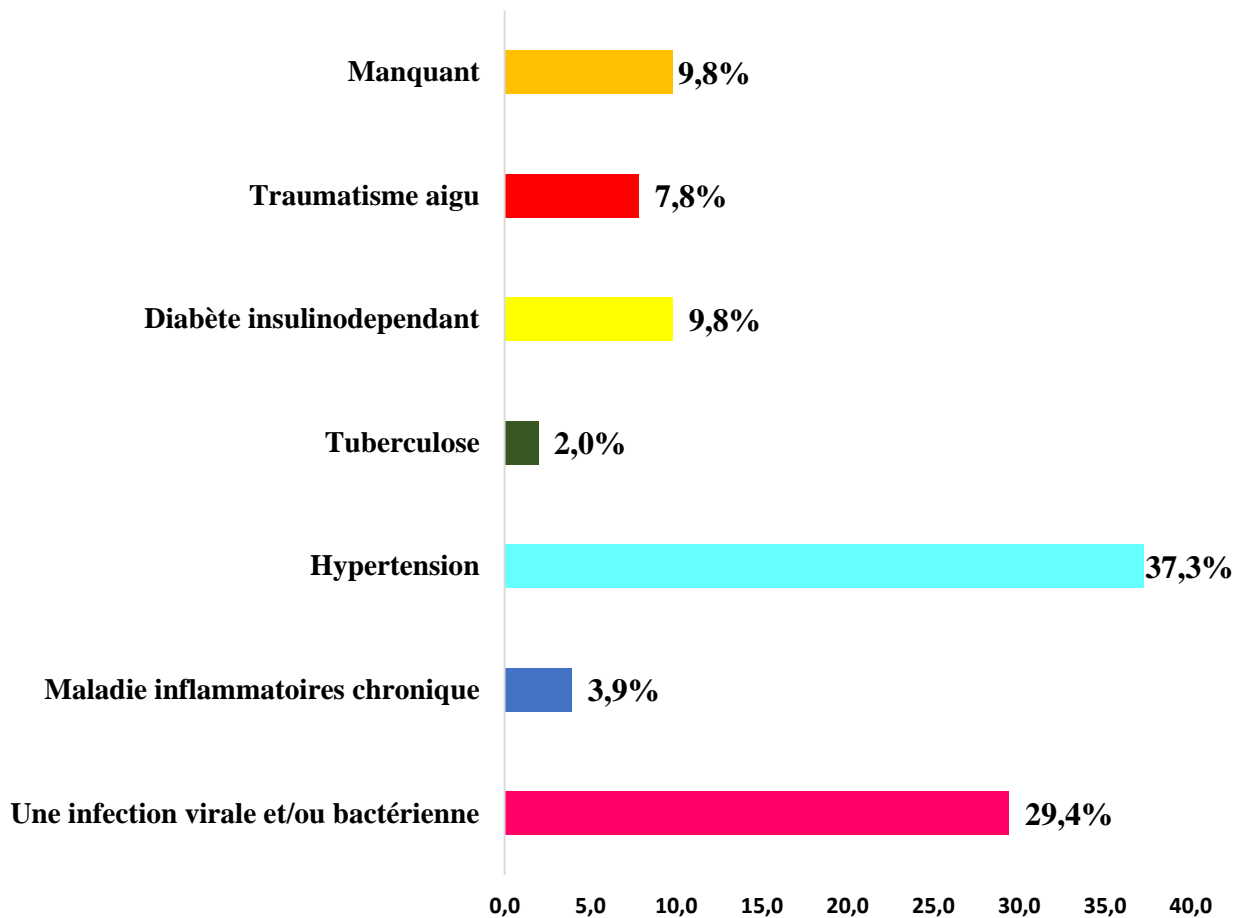


Figure 12 : Représentation graphique de la distribution des fausses thrombopénies selon les antécédents pathologiques des patients

2.3 Répartition des fausses thrombopénies selon la présence ou l'absence du traitement :

La majeure partie des cas (82,4%) étaient sous traitement.

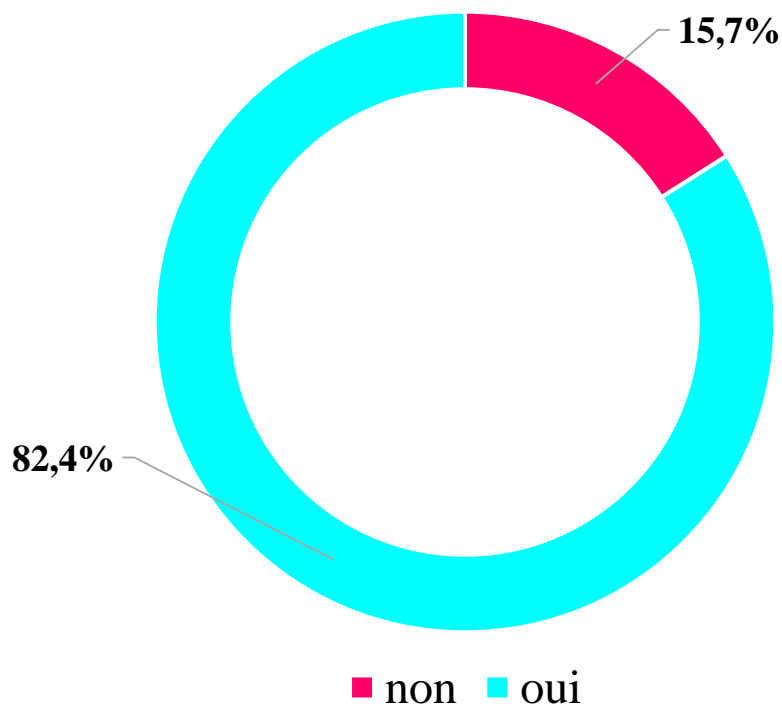


Figure 13 : Représentation graphique de la répartition des fausses thrombopénies selon la présence ou l'absence du traitement.

2.4 Distribution des cas selon les thérapies adoptées :

Les thérapies adoptées se composaient principalement d'antihypertenseurs avec 19,61% des cas. L'insulinothérapie, les antalgiques et les antibiotiques étaient représentées avec 11,76%. Le reste des thérapies inclue les cardiotoniques (3,92%), les hypokaliémiant (5,88%)

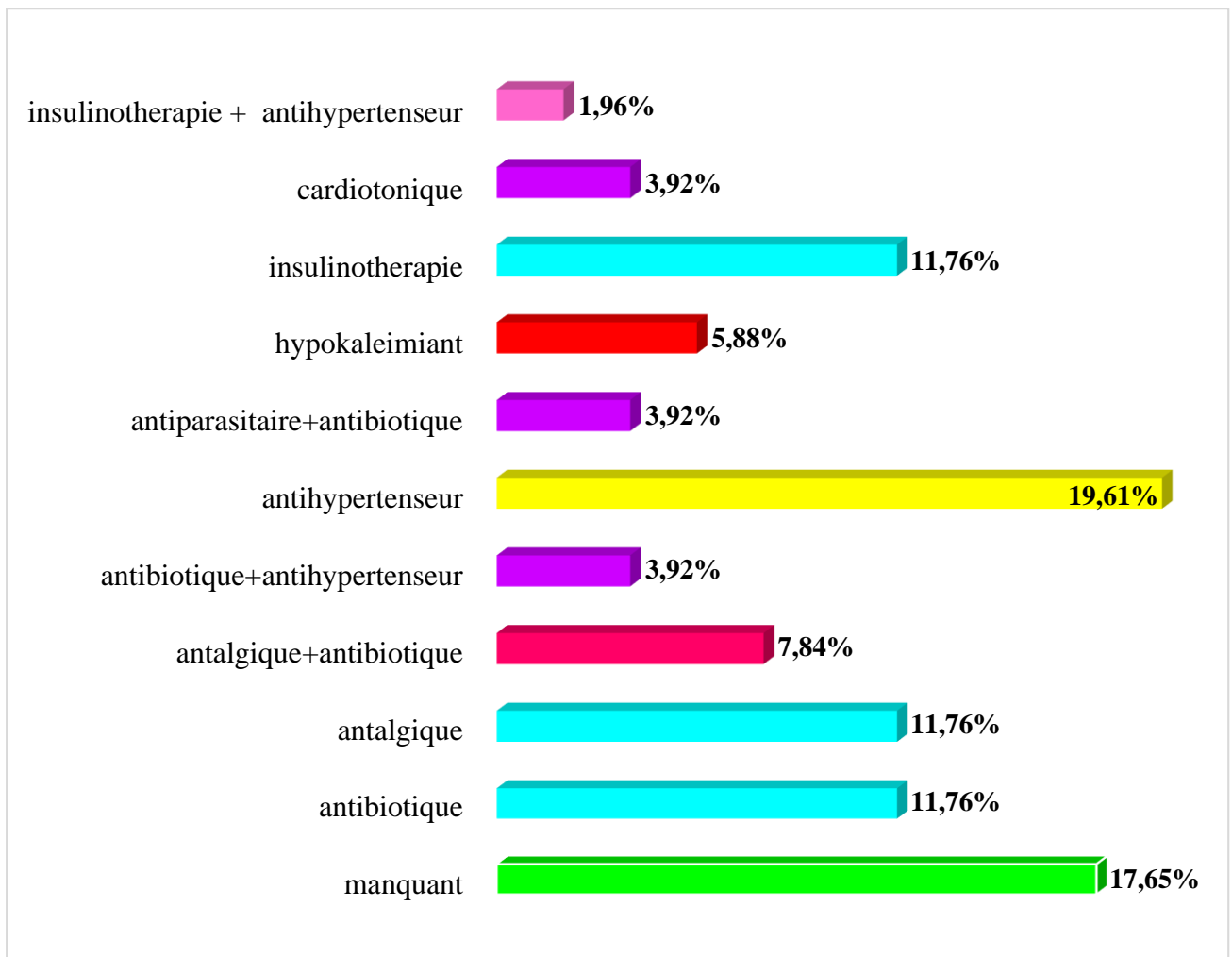


Figure 14 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les thérapies adoptées.

2.5 Distribution des cas selon leur mode de vie :

2.5.1 Distribution des cas selon la présence ou l'absence du Stress :

Deux tiers (68,8%) de la population étudiée présentaient du stress permanent.

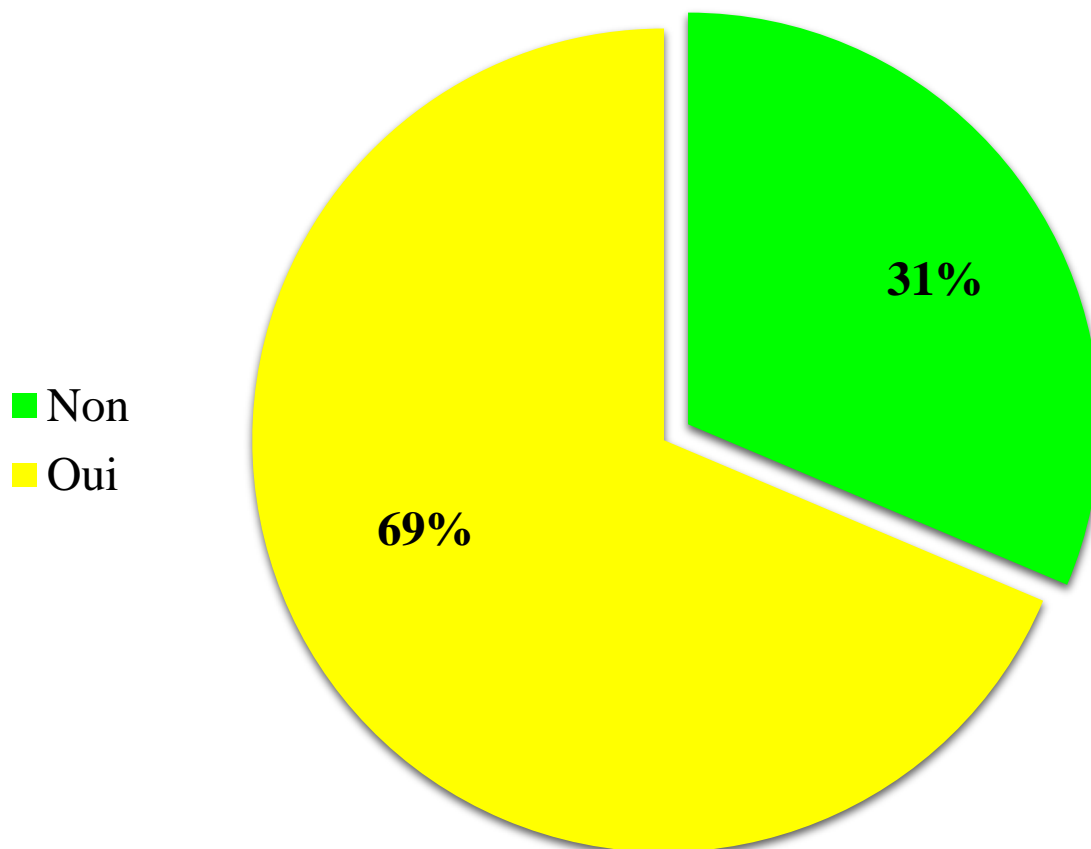


Figure 15 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l'absence du Stress permanent.

2.5.2 Répartition des cas selon la présence ou l'absence d'activités physiques :

Plus de **50%** de la population d'étude pratiquaient une activité physique.

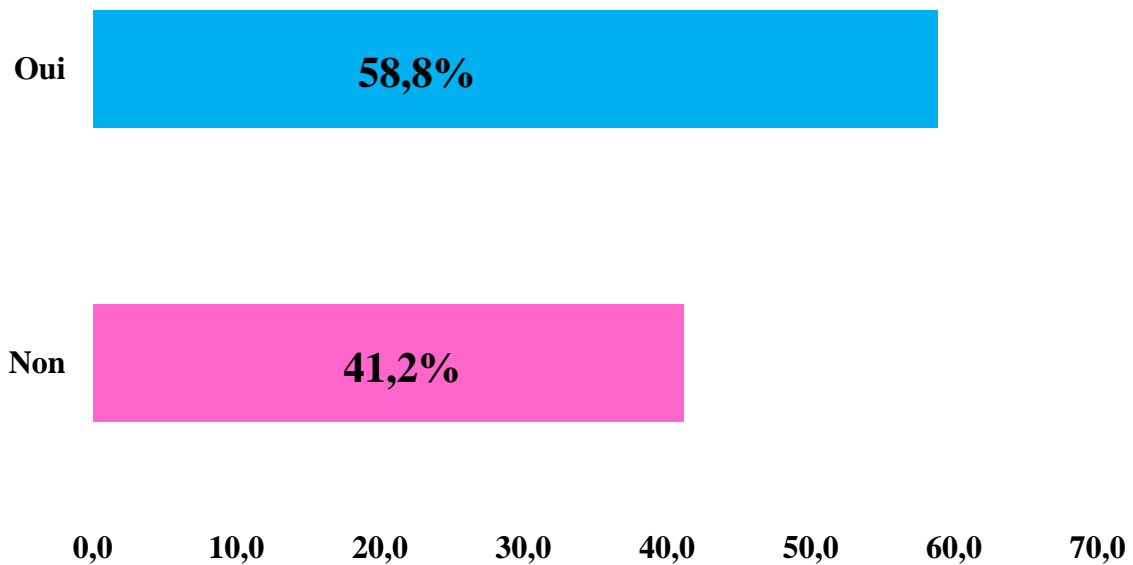


Figure 16 : Représentation graphique de la répartition des cas selon la présence ou l'absence d'activités physiques.

2.5.3 Distribution des cas selon la présence ou l'absence d'efforts physique dans les 3 derniers jours :

Un effort physique dans les 3 derniers jours était retrouvé chez **35,3%** de cas.

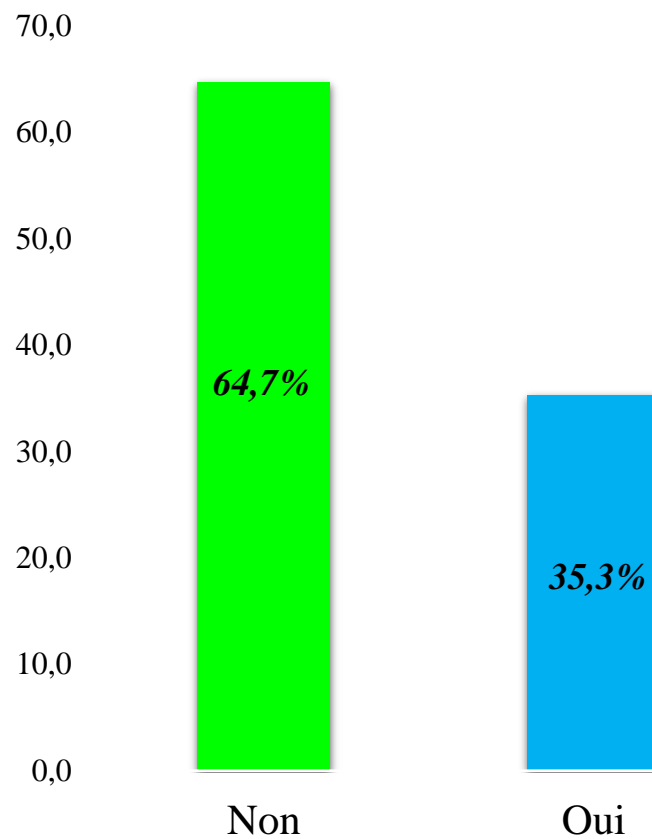


Figure 17 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l'absence d'efforts physique dans les 3 derniers jours.

2.5.4 Le sentiment de peur lors du prélèvement et survenue de fausses thrombopénies :

Seulement **un tiers (39,2%)** de cas présentait le sentiment de peur lors du prélèvement tandis qu'il était absent chez **60,8%** des patients.

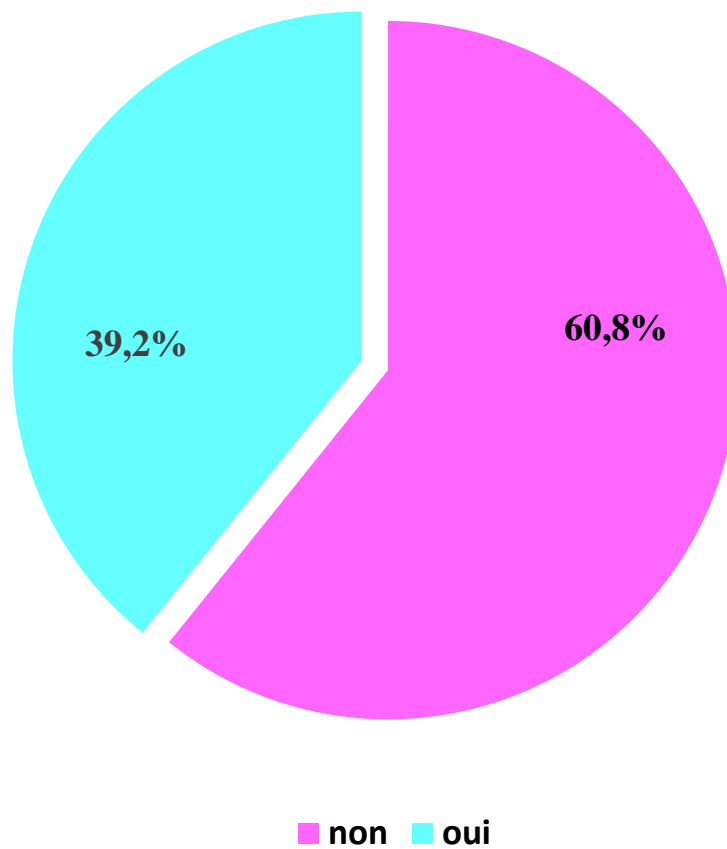


Figure 18 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l'absence du sentiment de peur lors du prélèvement au CHU Tizi Ouzou.

2.5.5 Distribution des malades selon les habitudes toxiques :

68,6% des patients se sont des buveurs du café et/ou des fumeurs. Alors que 27,5% des patients n'ont aucune habitude toxique.

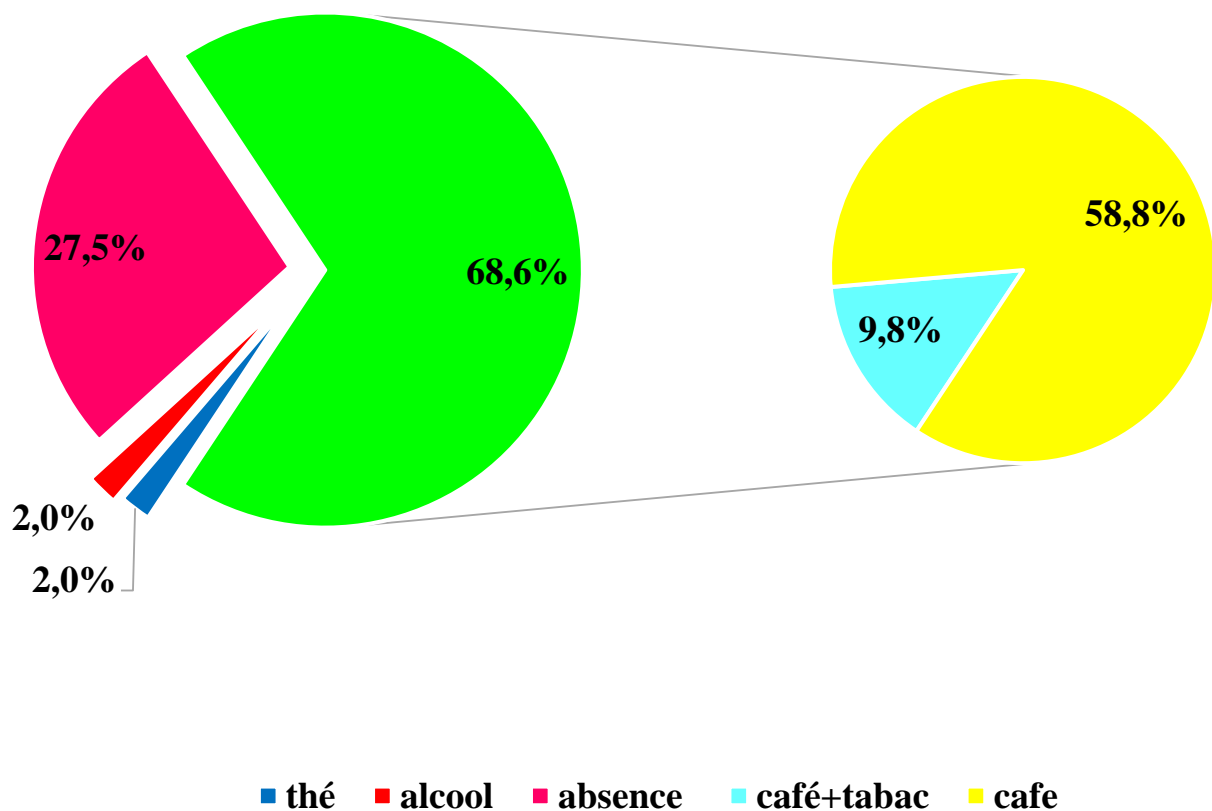


Figure 19 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la présence ou l'absence des habitudes toxiques

2.5.6 Distribution des cas selon leur type d'alimentation :

Presque **la moitié** (49%) des patients consommait une alimentation riche en sucre contre **43%** des cas qui avaient une alimentation équilibrée. Les protéines étaient consommées plus que les lipides malgré un faible %.

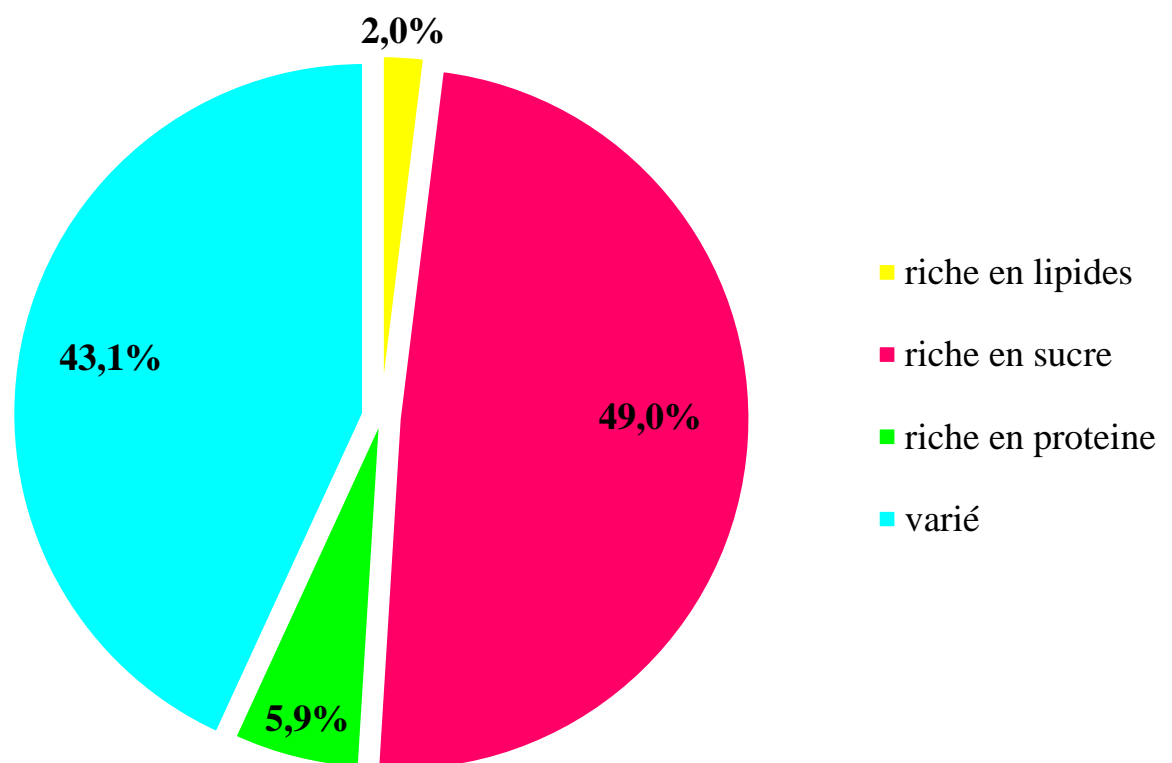


Figure 20 : Représentation graphique de la distribution des cas selon leur type d'alimentation.

3. Étude des fausses thrombopénies selon l'aspect préanalytique des échantillons :**3.1 Distribution des cas selon le type de prélèvement :**

Le prélèvement veineux est le plus représenté avec (**96,1%**) alors que le reste représentait un prélèvement artériel.

	Fréquence	Pourcentage (%)
Artériel	2	3,9
Veineux	49	96,1
Total	51	100

Tableau 04 : Distribution de la population selon le type des prélèvements effectués.

3.2 Distribution des cas selon la difficulté du prélèvement effectués :

Une difficulté de prélèvement est retrouvée dans 45,1 % suivis par les prélèvements faciles avec 31,4%

	Pourcentage (%)	Pourcentage cumulé (%)
Facile	31,4	100,0
Peu facile	23,5	68,6
Difficile	45,1	45,1
Total	100,0	

Tableau 05 : Distribution des cas selon la difficulté du prélèvement effectués

3.3 Distribution des cas selon le volume de remplissage des tubes :

Le remplissage conforme des tubes était observé dans les **76,5%** des cas. Cependant l'anomalie plaquettaire est observée aussi dans les tubes mal ou trop rempli avec des pourcentages bas.

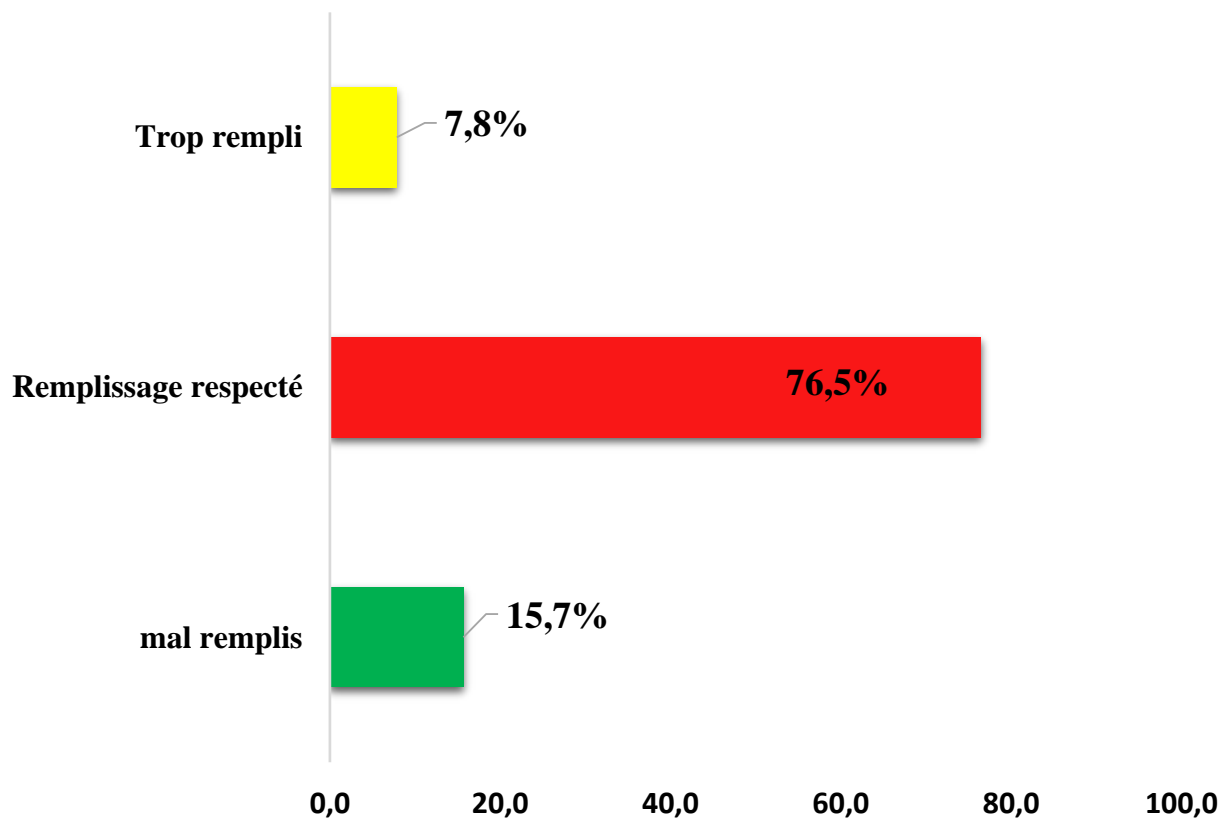


Figure 21 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le volume de remplissage des tubes.

3.4 Distribution des cas par rapport au délai entre le prélèvement et l'analyse :

On note que **la moitié** des cas (47,1%) était observées deux heures après le prélèvement. Selon le pourcentage cumulé descendant ; **60,8%** des cas étudiées était observées après deux heures.

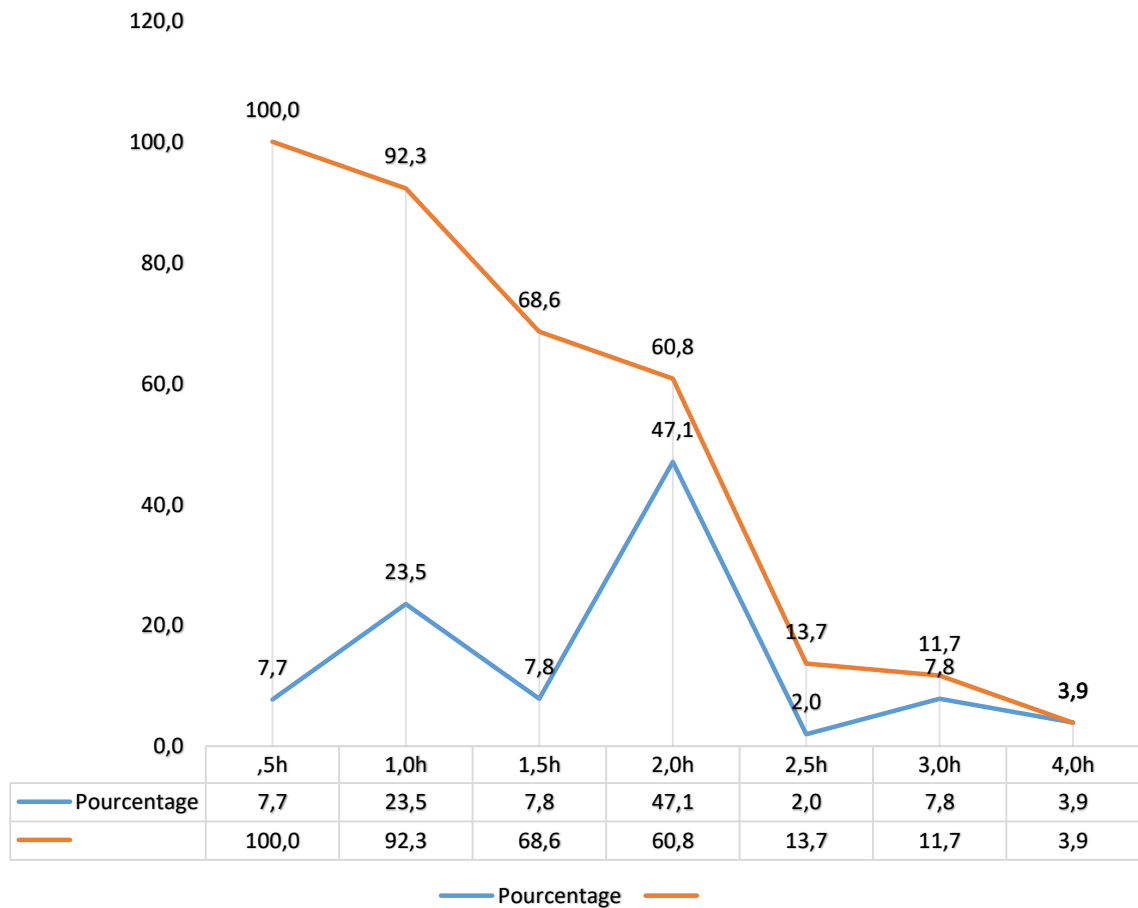


Figure 22 : Représentation graphique de la distribution des cas par rapport au délai entre le prélèvement et l'analyse.

3.5 Distribution des cas selon la température lors du prélèvement :

La majorité (98%) des prélèvements ont été effectués à température ambiante.

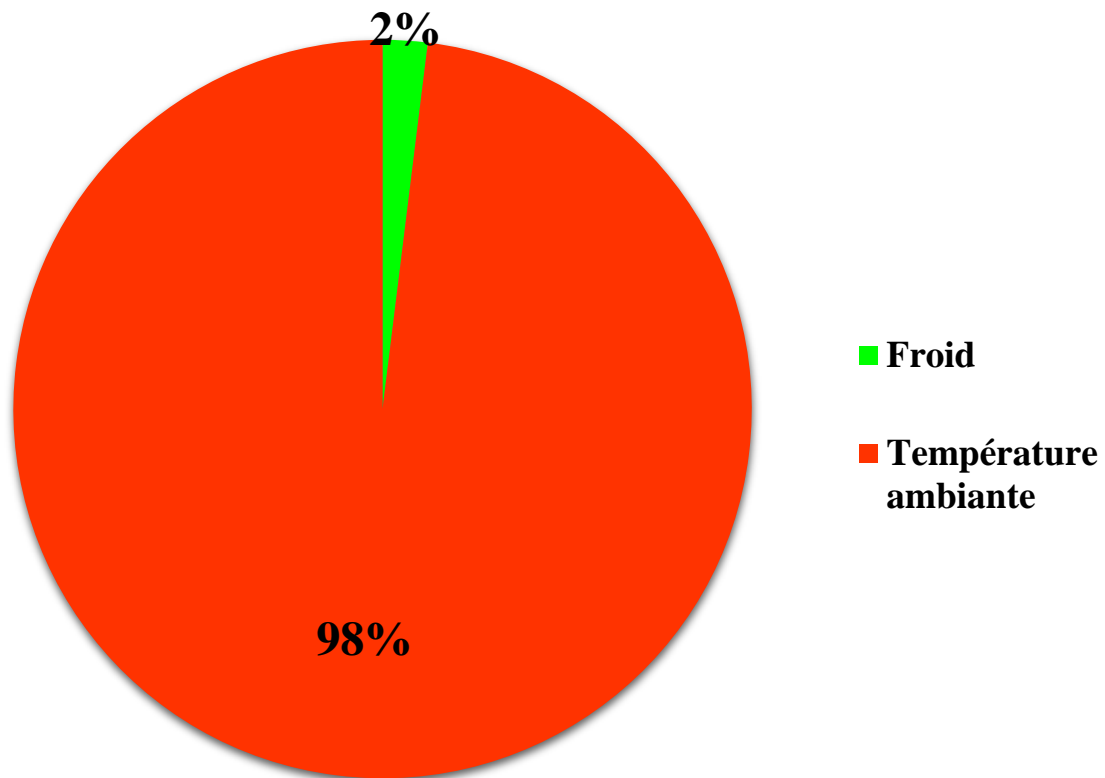


Figure 23 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la température lors du prélèvement.

3.6 Distribution des cas selon l'homogénéisation des tubes lors du prélèvement :

On a observé que la majorité (**98%**) des cas de la pseudothrombopénie étaient survenues dans les tubes avec une homogénéisation conforme.

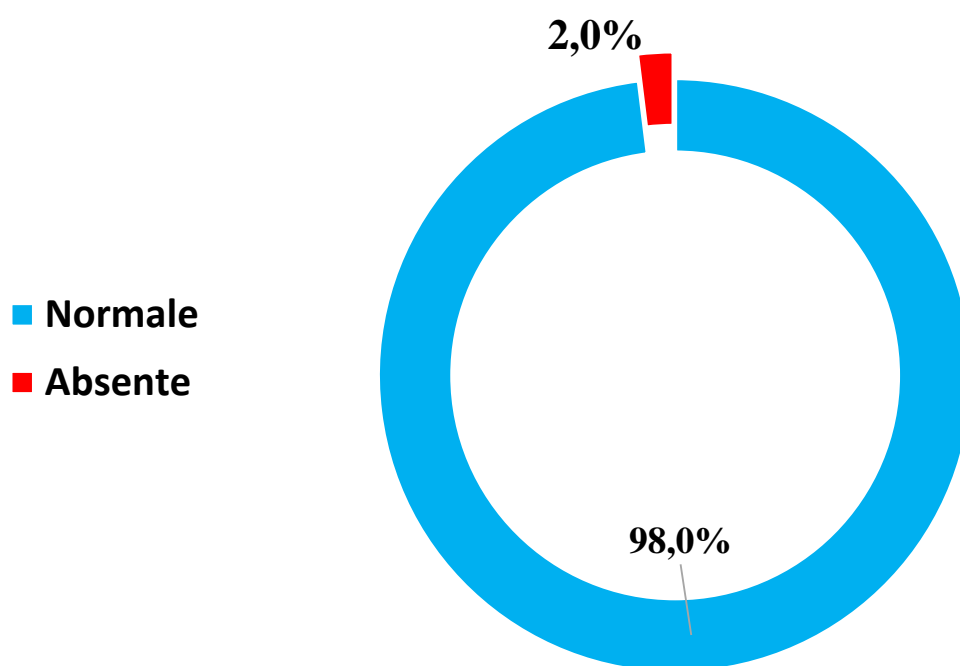


Figure 24 : Représentation graphique de la distribution des cas selon l'homogénéisation des tubes lors du prélèvement.

4. Étude des fausses thrombopénies selon l'aspect analytiques :

4.1. Distribution de patients selon le taux de plaquettes sur tube EDTA :

Le taux de plaquettes de [50-100[G/L était le plus représentée avec 58,8%. Le taux de plaquettes moyen était de 66 ± 31.33 G/L avec un minima de 9 G /L et un maxima de 142 G/L.

	Fréquence	Pourcentage	Pourcentage cumulé
[0-20[G/L	3	5,9%	5,9%
[20-50[G/L	12	23,5%	29,4%
[50-100[G/L	30	58,8%	88,2%
[100-150[G/L	6	11,8%	100%
Total	51	100%	

Tableau 06 : Distribution de patients selon le taux de plaquettes sur tube EDTA.

Selon le pourcentage cumulé ; la majorité des patients (**88,2%**) avaient un taux de plaquette inférieur à **100 G/L**.

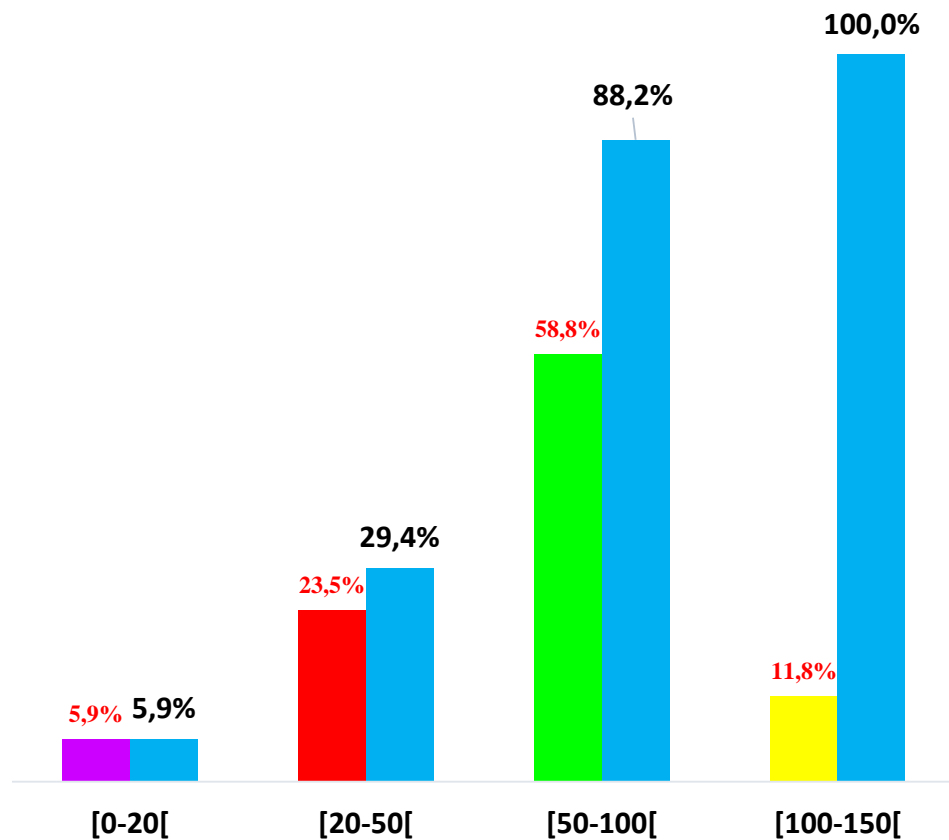


Figure 25 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le pourcentage cumulé des taux de plaquettes sur tube EDTA.

4.2 Répartition des cas selon le volume plaquettaire moyen (VPM) :

84.3% des cas avaient un volume plaquettaire moyen compris entre 9 et 13 fL. (Valeur de référence).

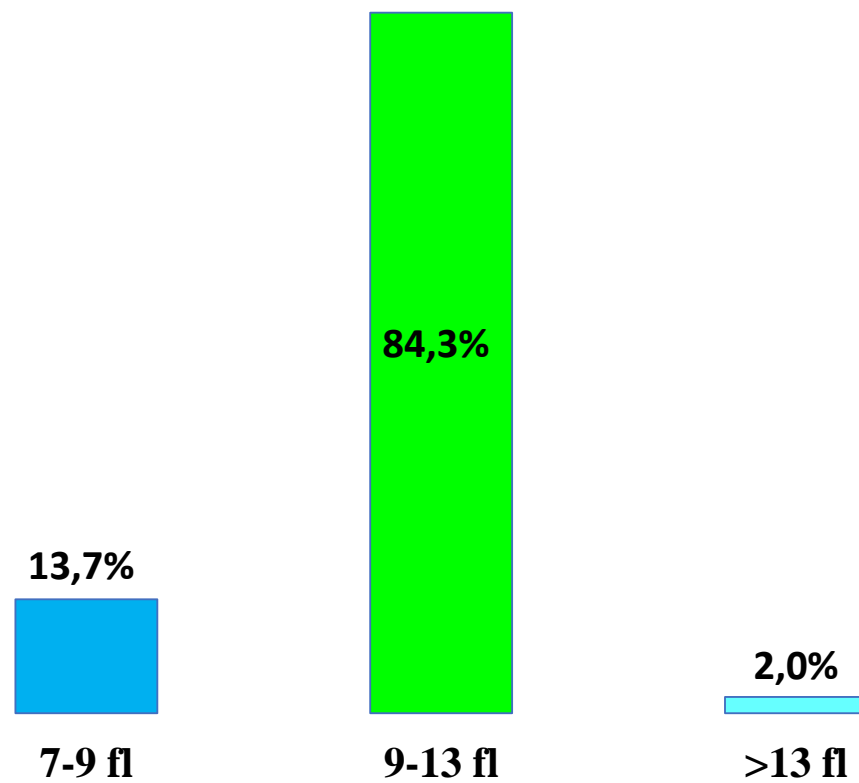


Figure 26 : Représentation graphique de la répartition des cas selon le volume plaquettaire moyen (VPM).

4.3 Distribution des cas selon la richesse plaquettaire estimée sur le frottis sanguin :

La richesse plaquettaire sur le frottis sanguin était estimée à trois croix dans **74,5%** des cas. Cependant elle n'était désignée que par deux croix dans 21,6% et par une croix dans 3,9%.

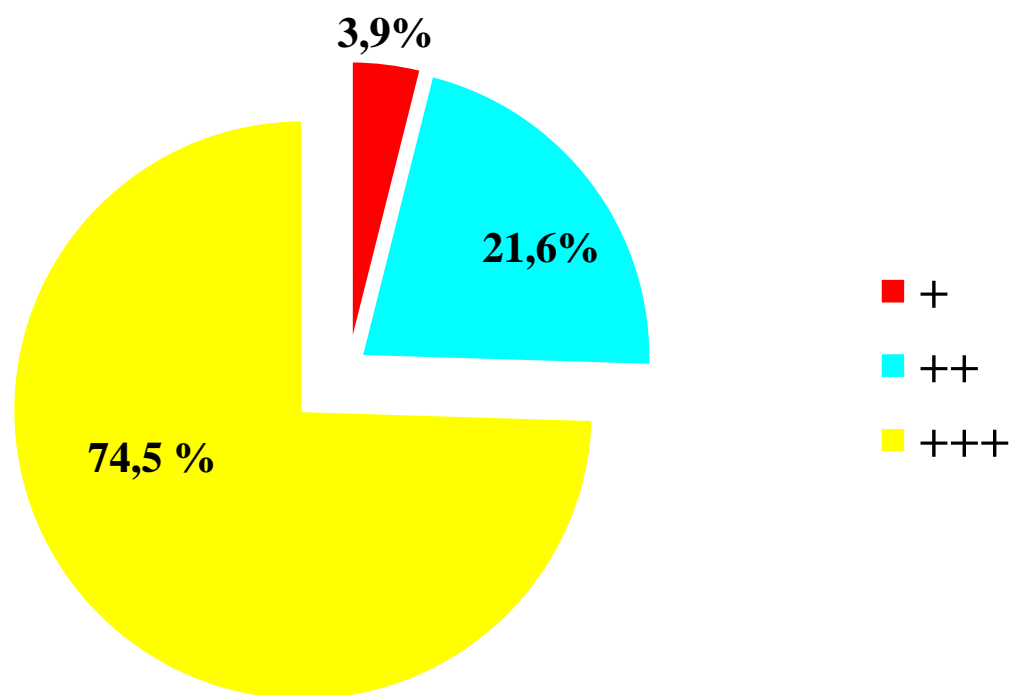


Figure 27 : Représentation graphique de la distribution des cas selon la richesse plaquettaire estimée sur le frottis sanguin.

4.5 Distribution des cas selon le type de l'anomalie plaquettaire :

Des agrégats plaquettaires ont été trouvés sur la majorité (**84,3%**) des frottis sanguins réalisés.

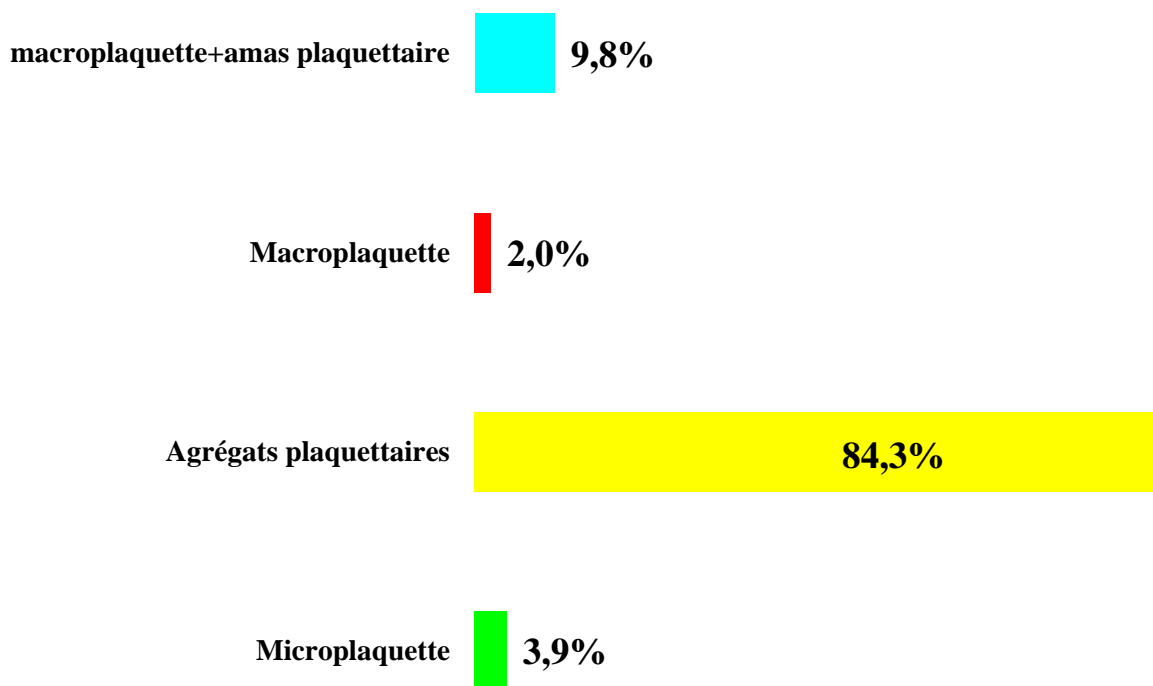


Figure 28 : Représentation graphique de la distribution des cas selon le type de l'anomalie plaquettaire

4.6 Distribution des cas selon les taux de plaquettes sur tube citraté :

Le prélèvement citrate corrige **84.3%** des cas qui sont inclus dans l'intervalle de référence
Dans **16.7%** des cas, le taux plaquettaire est compris entre [130-150[G/L.

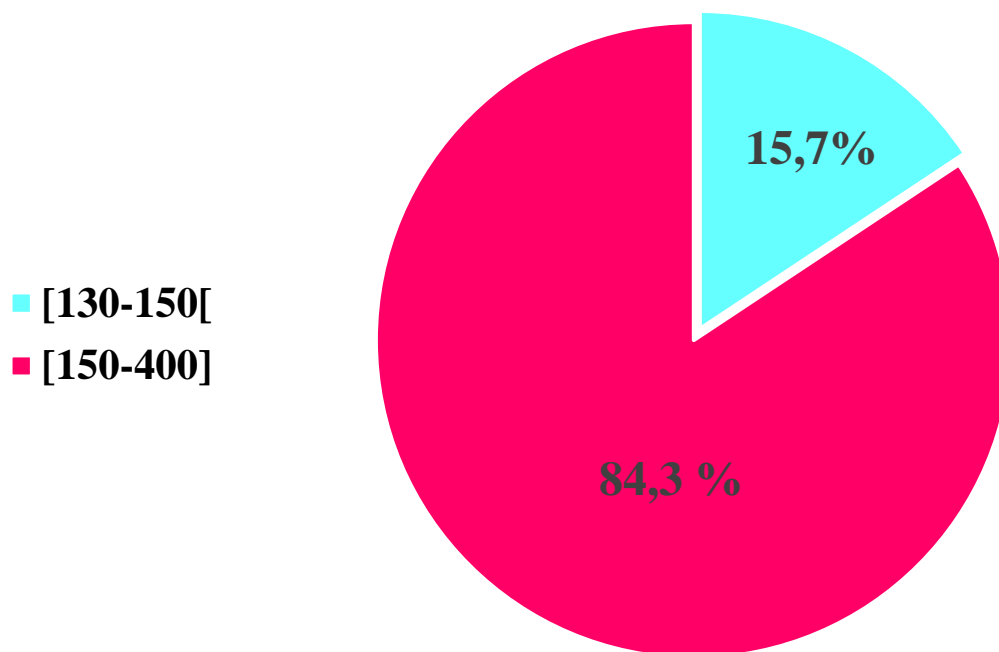


Figure 29 : Représentation graphique de la distribution des cas selon les taux de plaquettes sur tube citraté (G/L)

DISCUSSION

☞ **Biais et contraintes :**

Étant donné que toutes les paillasses du laboratoire ont été occupées par le personnel et les stagiaires, il nous a été difficile de réaliser les frottis sanguin, de faire la mise au point des lames sur un seul microscope. Par ailleurs, la recherche des cas a été faite à raison de cinq jours par semaine.

- Dans notre étude, on n'a pas réussi à distinguer les fausses thrombopénies EDTA-dépendantes des non EDTA-dépendantes car un deuxième prélèvement sur EDTA n'a pas été réalisé vu que certains patients refusent d'autres prélèvements.
- Certaines fiches sont incomplètes (patients externes, patients décédés ou perdu de vue, dossiers manquants)
- La taille de notre échantillon a été un facteur limitant dans l'analyse de données, en particulier l'étude de l'incidence de la PTE dans la population générale
- La durée de travail insuffisante pour une meilleure exploitation des données
- Manque des moyens d'investigation spécialisés tels que la recherche des anticorps antiplaquetaires responsables de l'agrégation des plaquettes en présence d'EDTA
- Et enfin pour parfaire ce travail nous avons buté aux difficultés d'ordre administratif et clinique en ce qui concerne le remplissage des fiches de renseignements.

1. Étude épidémiologique de notre série

L'étude précédente	L'incidence de PTCP rapportée par l'étude
Sharma <i>et al</i> (1991) [59].	0.23%
N.J. Wilkes (2000) [60].	0.21%
Vicari <i>et coll</i> (2003) [61].	0.13%
Guiseppe Banfi (2008) [62].	0.2%
Sema Akinci (2014) [63].	0.13%
Ohashi-Fukuda <i>et al</i> (2015) [64].	0.17%
Romário F. Prates <i>et coll</i> (2017) [65].	0.196%
Notre étude (2018)	0.26%

Tableau 07 : Représente les incidences de pseudothrombopénie dans différentes études.

■ Incidence des fausses thrombopénies

L'incidence de la PTE au laboratoire est de **0,26 %**. Et elle est de **0,88%** chez les patients hospitalisés et **0,09%** chez les externes. Nos résultats rejoignent les chiffres des études mentionnées dans le tableau, et qui confirment la rareté du phénomène.

Cette incidence s'élève à **21%** chez les patients avec une thrombopénie, L'étude d'**Akinci et al [63]** rapporte une incidence de **16,8%** de PTCP chez des patients considérés comme thrombopéniques avec moins de **150 G/L** de plaquettes, la même incidence est retrouvée dans l'étude de **Cohen et al (17%).[66]**

■ Répartition selon l'âge

En répartissant la population selon l'âge, on a fait ressortir un âge moyen de **44± 22,5** ans avec des âges extrêmes de **4** à **87** ans. Les études faites par **P. E.Markis et coll [67]** et **Bizzaro et al [47]** prétendent que l'anomalie plaquettaire est indépendante de l'âge. **Akinci et al [63]**, **Isik et coll [68]** ont trouvé des chiffres qui se rapprochent de ceux de notre série.

■ Répartition selon le sexe

Dans la population étudiée la sous-estimation plaquettaire survenait chez les deux sexes avec une sex-ratio H/F égal à **1,04, 26 hommes (51%) et 25 femmes (49%)**. Ces résultats concordent avec ceux de l'étude de **Bizzaro et al [47]** qui stipule que le sexe n'a rien avoir avec la baisse du taux plaquettaire. Nos résultats sont superposables à ceux de l'étude d'**Akinci et coll [63]** : Femmes (**48,6%**) et Hommes (**51,4%**) avec sex-ratio H/F = **1,05**.

Ceci n'est pas en accord avec plusieurs auteurs qui évoquent que l'anomalie apparait beaucoup plus chez les femmes [**69, 70**].Cependant les travaux de **Ohashi-Fukuda et al [64]**, de **Lin et al [71]** et **Xiao et coll [72]** ne partagent pas l'idée en signalant le problème beaucoup plus chez les hommes avec une sex-ratio allant jusqu'à 2.

Cette différence de résultats est due certainement à la taille de l'échantillon qui est très petite

■ Distribution selon le service de consultation

70,6% des patients étaient hospitalisés au niveau des différents services et seulement **29,4%** étaient des externes. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de l'étude de **Berkman et al [73]** qui rapporte que les patients étaient beaucoup plus des hospitalisés dans les unités de soins intensifs.

2. Étude clinique de notre série

■ Antécédents transfusionnels

Une étude a évalué la numération plaquettaire après des transfusions rapides et massive de CPS suivies par des produits de remplissage (des colloïdes et des cristalloïdes), le résultat est une diminution du taux plaquettaire par hémodilution. Dans l'étude de **Bizzaro [47]** une question était soulevée voulant savoir est-ce que la PTE se transmet d'un patient à un autre par simple transfusion, la réponse était négative dans le travail de **Maslanka et al [74]**, et **Sweeney et coll [75]**.

Dans notre étude 17 patients ont été transfusés à savoir (33%) des cas, et seulement 4 patients ont reçu des CPS

■ Antécédents pathologiques

La population de notre série se présentaient avec des pathologies diverses, 9,8% des cas n'ont pas d'antécédents pathologiques, ces résultats rejoignent plusieurs séries d'étude. Dans les travaux d'**Isik et al [68]** la PTE a été évaluée en présence de quelques pathologies telles que le diabète, l'hypertension, maladies auto-immunes, syndrome des antiphospholipides, cardiopathies, AVC et hypothyroïdisme. Cependant, **N. Bizzaro [44]** démontre dans son étude que la PTE n'est pas associée à des pathologies spécifiques et qu'elle survient aussi chez les sujets sains

■ Répartition selon le traitement en cours et la thérapeutique adoptée

Dans notre travail on a trouvé que **82,4%** des patients étaient sous traitement. Les traitements hypertenseurs viennent les premiers dans la répartition suivi par l'insulinothérapie et les antalgiques et cela s'explique par le fait que l'hypertension, le diabète et les maladies inflammatoires sont des pathologies chroniques très fréquentes dans la population générale.

■ Distribution selon le mode de vie et l'activité physique

Le stress est un facteur qui influence la numération plaquettaire, ce facteur a été évalué dans une étude sauf que l'enquête a été menée sur l'espèce féline (**GRANAT et al [76]**). Deux tiers de la population d'étude est exposé à un stress au quotidien, ce dernier provoque une augmentation des hormones du stress, les catécholamines, qui à leur tour activent les plaquettes. C'est ce qui est observé dans l'étude de **Haft et al [77]**

L'activité physique est un stress physique pour le corps. Cette situation modifie les fonctions plaquettaires en augmentant leur agrégation. Dans notre série, **50%** des patients pratiquaient une activité physique, un résultat similaire est retrouvé dans le travail de **Levites et al [78]**

■ **Consommation des toxiques et produits stimulants**

Dans notre étude, peu de cas de fausse thrombopénie sont associés à la prise d'alcool, du thé et du café de façon isolée. Par contre l'association tabac-café fait augmenter la fréquence des cas à 10%. En effet, le tabac en activant les plaquettes, le volume moyen plaquettaire augmente. Les automates ne compte pas les plaquettes avec un MPV supérieur à la limite de détection (LOD) ce qui fait que la numération donnée soit basse.

■ **Type d'alimentation**

D'après notre série, nous constatons une prédominance de l'artéfact chez les patients qui prenaient une alimentation riche en glucide ou équilibrée ; cela pourrait s'expliquer par les habitudes alimentaires, qui tendent à favoriser les produits riches en glucides (Produits à base de farine blanche comme les pâtes, les biscuits, les chips, les légumes secs).

La teneur élevée du sang en glucose peut créer un stress oxydant qui pousse les plaquettes à s'agréger.

3. Étude des fausses thrombopénies selon l'aspect préanalytiques des échantillons

Tous les facteurs et processus déterminants qui influencent un échantillon avant son analyse au laboratoire font partie du préanalytique. Dans ce contexte, nous distinguons les facteurs d'influence liés au patient et aux erreurs.

Dans notre étude, une difficulté de prélèvement est retrouvée dans 45,1% des cas .Le prélèvement difficile est considéré comme la première cause de pseudothrombopénie. Une lettre d'information n°47 du **Laboratoire BIO 67-BIOSPHERE [79]** confirme que ; La 1ère cause à envisager dans **les thrombopénies artéfactuelles** est liée au prélèvement : « un prélèvement difficile entraîne une activation des plaquettes et un début de coagulation. Des agrégats plaquettaires de taille variable et en plus ou moins grand nombre se forment, parfois accompagnés de filaments de fibrine ».

Le remplissage conforme et l'homogénéisation des tubes sont observés dans la majorité des cas.

La moitié des échantillons (47,1%) est traitée deux heures après le prélèvement. Selon le pourcentage cumulé ; 60,8% des cas étaient observés après deux heures. Nos résultats sont semblables à l'étude de **Sheiner et al [80]** affirmant que les PTE se produisent toujours in vitro, en 1 ou 2 minutes et augmentent progressivement jusqu'à 2 heures après le prélèvement sanguin

4. Étude des fausses thrombopénies selon l'aspect analytique

La distribution des patients selon la numération plaquettaire sur tube EDTA a montré que le taux de 50 à 100 G/L était le plus représenté avec 58,8%. Le taux de plaquettes moyen était de 66 G/L \pm 31,33 avec un minima de 9 G/L et un maxima de 142 G/L

84,3% des cas ont un VPM compris entre 9 et 13 fl. Il y'a peu d'étude concernant l'évaluation du VPM en présence de PTE. Dans l'étude de **Geok chin tan et al [81]**, **Berkman et coll [73]** le VPM était normal , ce qui rejoint nos resultats.

Parmis les 266 frottis sanguins réalisés, seulement 57 étalements ont révélé une fausse thrombopénie. La recherche d'agrégats plaquettaires était positive dans la majorité des étalements (84,3%), Cette dernière était l'anomalie la plus présente dans l'étude d'**Izhar Shabnam et al [82]** avec une fréquence de 72% des cas.

Concernant l'effet du citrate sur la numération plaquettaire, dans 84,3% des cas il y a une correction de la numération plaquettaire ce qui ramène le taux plaquettaire dans l'intervalle de référence 150 à 450 G/L alors que dans 16,7% des échantillons la correction était partielle avec des valeurs au-dessous des normes. Le prélèvement sur tube citraté est recommandés par plusieurs études **Bizzaro et al [47]**, et **D. NakuI-Aquaronne et al [44]**.

CONCLUSION

Conclusion et recommandations

Nous avons réalisé une étude prospective et descriptive chez 51 patients ayant présenté une fausse thrombopénie et dont le but est d'étudier le profil épidémiologique, clinique, pré analytique et analytique de ces patients.

Les principales caractéristiques constatées sont :

- L'incidence des fausses thrombopénies est de l'ordre de 0.26%.
- La fausse thrombopénie est observée essentiellement chez les patients avec HTA à 37.3%.
- La transfusion d'une grande quantité de PSL pourrait être l'origine de la fausse thrombopénie.
- L'implication des conditions préanalytiques, telles que la qualité du prélèvement, la durée entre prélèvement et analyse et le type de l'anticoagulant utilisé, a été observée.

Nous pouvons conclure que la numération automatique des plaquettes bien qu'elle soit plus précise que les méthodes manuelles, peut entraîner des erreurs par défaut que sont les pseudothrombopénies. C'est un phénomène in-vitro survenant dans le tube de prélèvement qui n'entraîne aucun risque pour le patient, c'est un artefact de laboratoire qui ne s'accompagne jamais de phénomène hémorragique. Leur méconnaissance peut aboutir à des décisions d'ordre clinique inutiles et nocives. En effet des pseudothrombopénies méconnues à l'EDTA ont entraîné des investigations complémentaires dont la ponction médullaire, des bilans d'auto-immunité itératifs, des traitements inefficaces au long cours par les corticoïdes, voire même des cas extrêmes de splénectomie. Cependant, la conséquence la plus fréquente est une interruption d'intervention chirurgicale ou un report des examens invasifs par découverte d'une thrombopénie dans le bilan préopératoire. Le biologiste doit donc toujours rester vigilant à ce phénomène de fausse thrombopénie. C'est un piège diagnostique à connaître.

Il ressort dans notre travail les recommandations suivantes :

- Continuer l'étude sur une large cohorte et une durée plus longue pour cibler particulièrement les patients qui présentent des fausses thrombopénies, suites aux agrégats plaquettaires qu'ils soient EDTA dépendant ou non EDTA dépendant, avec une procédure en plusieurs étapes pour enfin obtenir un taux réel des plaquettes ;
- Systématiser le frottis sanguin devant toute thrombopénie inconnue ;
- Proposer des procédures strictes (arbre décisionnel), pour pouvoir se prémunir contre ces pièges ; (Annexe VI)

-
- Utiliser des automates d'hématologie cellulaires associant les principes d'optique et de la fluorométrie permettant un comptage fiable et précis des plaquettes ;
 - Procéder à l'informatisation des dossiers cliniques des patients, à la rigueur dans la traçabilité des données et l'archivage.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. LHERMUSIER T. Régulation plaquettaire : Ciblage de la protéine kinase Syk dans les HIT et rôle du transporteur lipidique ABCA1 dans les fonctions plaquettaires. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier;
- [2]. Michelson, M.D. AD. PLATELETS. Second Edition. 2007.
Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16427392>
- [3].Beri-Dexheimer M, Latger-Cannard V, Philippe C, et al. Clinical phenotype of germline RUNX1 haploinsufficiency: from point mutations to large genomic deletions. Eur J Hum Genet 2008;16:1014-1018
- [4].Tosetto A, Castaman G, Rodeghiero F. Assessing bleeding in von Willebrand disease with bleeding score. Blood Rev 2007;21:89-97
- [5].Gordon N, Thom J, Cole C, et al. Rapid detection of hereditary and acquired platelet storage pool deficiency by flow cytometry. Br J Haematol 1995;89:117-123
- [6]. Dey F, Moller A, Kemkes-Matthes B, et al. Reduced platelet aggregation in a boy with scurvy. KlinPadiatr 2012;224:448-452
- [7]. Weiss HJ, Lages B, Vivic W, et al. Heterogeneous abnormalities of platelet dense granuleultrastructure in 20 patients with congenital storage pool deficiency. Br J Haematol1993.
- [8].**Nicolas Guillot** : Plaquettes sanguines et mégacaryocytes humains : Impact de différentes concentrations d'acide docosahéxaénoïque sur leur activation et leur état redox. .Sciences du Vivant [q-bio].Université Claude Bernard-Lyon I, France 2008
- [9].Boneu b, Cazenave JP. Introduction à l'étude de l'Hémostase et de la Thrombose. 2eme éd. Alinea; 1997
- [10].Valensi F. Morphologie des cellules sanguines normales. EMC - Hématologie. 2006;1:1-12.
- [11]. Horellou M-H, Flaujac C, Gouin Thibault I. Hémostase : physiologie et principaux test d'exploration. EMC - Traité Médecine AKOS. 2012;7:1-4.
. DANG BN, Formateur C. L'HEMOSTASE.
- [12]. Horellou M-H, Flaujac C, Gouin Thibault I. Hémostase : physiologie et principaux test d'exploration. EMC - Traité Médecine AKOS. 2012;7:1-4.
. Walsh PN. Platelet Coagulation-Protein Interactions. SeminThrombHemost. 2004;30:461-71.
- [13]. Janeway CM, Rivard GE, Tracy PB, Mann KG. Factor V Quebec revisited. Blood. 1996.
- [14]. Jobin F. L'hémostase. Presses Université Laval; 1995.
- [15]. Mezzano D, Quiroga T, Pereira J. The level of laboratory testing required for diagnosis or exclusion of a platelet function disorder using platelet aggregation and secretion assays. SeminThrombHemost. \copyright Thieme Medical Publishers; 2009. p. 242–254.
- [16]. Patel N. Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use. Tech Talk Frankl Lakes BD Diagn. 2009;
- [17]. Cohle SD, Saleem A, Makkaoui DE. Effects of storage of blood on stability of hematologic parameters. Am J Clin Pathol. 1981;76:67–69.
- [18]. Has Haute autorité de Santé. ANAES. Lecture critique de l'hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques. 1997.
- [19]. Brummitt DR, Barker HF. The determination of a reference range for new platelet parameters produced by the Bayer ADVIATM120 full blood count analyser. Int J Lab Hematol. 2000.
- [20]. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. Int J Lab Hematol. 2007;29:77–91.
- [21]. Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, Winter M, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. Br J Haematol. 2011;155:30–44.
- [22]. O'malley T, Ludlam CA, Fox KAA, Elton RA. Measurement of platelet volume using a variety of different anticoagulant and antiplatelet mixtures. Blood Coagul Fibrinolysis. 1996;7:431–436.

-
- [23]. Latger-Cannard V, Fenneteau O, Salignac S, Lecompte TP, Schlegel N. Platelet Morphology Analysis. In: Monagle P, éditeur. Haemostasis [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2013. p. 207-25. /10.1007/978-1-62703-339-8_16
- [24]. Horellou M-H, Flaujac C, Gouin Thibault I. Hémostase : physiologie et principaux test d'exploration. EMC - Traité Médecine AKOS. 2012;7:1-4.
- [25]. Masson E. Thrombopénies : (à l'exception des purpuras thrombopéniques idiopathiques et des purpuras thrombotiques thrombocytopéniques) [Internet]. EM-Consulte.
- [26]. Najman A. Hématologie : précis des maladies du sang. Paris: Ellipses; 1994.
- [27]. Pediatric Hematology. ArciRj Et Al., Editors. Blackwell Publishing. 2006.
- [28]. Godeau B, Bierling P. Thrombopénie. Orientation diagnostique. Rev Prat. 1997;47:1695-701.
- [29]. Martin JN, Bailey AP, Rehberg JF, Owens MT, Keiser SD, May WL. Thrombotic thrombocytopenic purpura in 166 pregnancies: 1955-2006. Am J Obstet Gynecol. 2008;199:98-104.
- [30]. Levine SP. Thrombocytopenia caused by immunologic platelet destruction. WintrobClinHematol. 2004;11:1533-54.
- [31]. Bierling P. Thrombopénie: orientation diagnostique. Rev Prat. 2005;55:1355-61.
- [32]. <http://www.medical-actu.com/cours/hematologie/thrombopénie-2/> - Recherche Google [Internet]. [Consulté le 16 janv 2018].
- [33] **CHADI F.** Thrombopénies constitutionnelles [Thèse]. 2016.
- [34]. <http://www.larousse.fr/encyclopédie/médical/thrombocytopénie/16572>. - Recherche Google [Internet]. [Consulté le 16 janv 2018].
- [35]. Godeau B, Bierling P. Thrombopénies. EMC - Traité Médecine AKOS. 2012;7:1-9.
- [36]. Andreu G, Vasse J, Tardivel R, Semana G. Transfusion de plaquettes : produits, indications, dose, seuil, efficacité. Transfus Clin Biol. 2009;16:118-33.
- [37]. Coppo P, Vernant J-P, Veyradier A, Frémeaux-Bacchi V, Mira J-P, Guidet B, et al. Purpura thrombotique thrombocytopénique et autres syndromes de microangiopathie thrombotique. EMC - Hématologie. 2006;1:1-15.
- [38]. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. Blood. 2010;115:168-86.
- [39]. Tessier-Martreau A, Geneviève F, Godon A, Macchi L, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. Ann Biol Clin (Paris). 2010;393-407.
- [40]. MABROUKI H. Les pseudothrombopénies non EDTA-dépendantes: à propos de 2 cas et revue de la littérature. [Thèse]. 2011.
- [41]. Christensen RD, Sola MC, Rimsza LM, McMahan MJ, Calhoun DA. Pseudothrombocytopenia in a preterm neonate. Pediatrics. 2004;114:273-275.
- [42]. BRYAN W. REED, DO, AND RONALD S. GO, MD. Pseudothrombocytopenia Associated With Multiple Myeloma. www.mayo clinic proceedings.com. July 2006;81(7):869.
- [43]. Bizzaro N. Pseudothrombocytopenia. Platelets Third Ed. Elsevier; 2013. p. 989-997.
- [44]. Nakul-Aquaronne D, El Yakine A, Starck B, Bayle J. Les pièges de la numération automatique des plaquettes. Rev Fr Lab. 2002;2002:21-5.
- [45]. Bizzaro N. Pseudothrombocytopenia. Platelets Third Ed. Elsevier; 2013. p. 989-997.
- [46]. Géréme P, Cardon N, Crevon L, Ehrmann P, Dusseau J-Y, Masseron T, et al. Un artefact de laboratoire Ã dÃ©pister : la pseudothrombocytopénie liée à l'EDTA. Ann BiolClin (Paris). 2003;61:88-93.
- [47]. **Bizzaro N.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. Am J Hematol. 1995;50:103-109.

-
- [48]. **Schrezenmeier H, Müller H, Gunsilius E, Heimpel H, Seifried E.** Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *ThrombHaemost.* 1995;73:506–513.
- [49]. **Dabadie M, Valli N, Jacobin M-J, Laroche-Traineau J, Barat J-L, Ducassou D, et al.** Characterisation, cloning and sequencing of a conformation-dependent monoclonal antibody to the α IIb β 3 integrin: interest for use in thrombus detection. *Platelets.* 2001;12:395–405.
- [50]. **Sane DC, Damaraju LV, Topol EJ, Cabot CF, Mascelli MA, Harrington RA, et al.** Occurrence and clinical significance of pseudothrombocytopenia during abciximab therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:75–83.
- [51] **Bizzaro N, Brandalise M.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J ClinPathol.* 1995;103:103–107.
- [52] **Van der Meer W, Allebes W, Simon A, Van Berkel Y, De Keijzer MH.** Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA- and temperature-independent antibodies of the IgM type. *Eur J Haematol.* 2002;69:243–247.
- [53] **Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro AR, Girolami A.** EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIb-IIIa. *J ClinPathol.* 1994;47:625–630.
- [54] **Cesca C, Ben-Ezra J, Riley RS.** Platelet satellitism as presenting finding in mantle cell lymphoma: a case report. *Am J ClinPathol.* 2001;115:567–570.
- [55] **Liso V, Bonomo L.** Platelet satellitism to basophils in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Blut.* 1982;45:347–350.
- [56] **Cohen AM, Lewinski UH, Klein B, Djaldetti M.** Satellitism of platelets to monocytes. *ActaHaematol.* 1980;64:61–64.
- [57] **Stringer KA, Lindenfeld J.** **Hirudins:** antithrombin anticoagulants. *Ann Pharmacother.* 1992;26:1535–1540.
- [58] **Beyan C, Kaptan K, Ifran A.** Pseudothrombocytopenia after changing insulin therapy in a case with insulin-dependent diabetes mellitus: A first case report. *Am J Hematol.* 2010;85:909–910.
- [59]. **A.Sharma et al:** Steroid-Induced Iatrogenic Disease After Treating for Pseudothrombocytopenia, Case Reports. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 17(1)100-102 © The Author(s) 2011. Reprints and permission: sagepub.com/journalsPermissions.nav,
- [60]. **N.J.Wilkes, N.A. Smith and S.V. Mallett:** Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia in a patient presenting for coronary artery bypass grafting. (*BJA*) 48 (5) : 640-2 (2000).
- [61]. **Vicari A, Banfi G, Bonini PA:** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: A 12-month epidemiological study. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48:537-542.
- [62]. **Guisepe Banfi, L. Germagnoli:** Preanalytical phase in haematology. *JMB* 27: 348–353, 2008. ISSN 1452-8258, DOI: 10.2478/v10011-008-0014-3.
- [63]. **Sema Akinci et coll:** Evaluation of pseudothrombocytopenia causes, *Basic Research Journal of Medicine and Clinical Sciences* ISSN 2315-6864 Vol. 3(4) pp. 24-27 June 2014, Available online <http://www.basicresearchjournals.org>, Copyright ©2014 Basic Research Journal
- [64]. **Naoko Ohashi-Fukuda et al:** Poorer Prognosis with Ethylenediaminetetraacetic Acid-dependent Pseudothrombocytopenia, A Single-center Case–control Study. *Medicine*, V 94, Num 15, April 2015.
- [65]. **Romário F. Prates; Robson C. Viana; Márcio V. Oliveira1; Claudio L. Souza:** Pseudothrombocytopenia: incidence and strategy for resolution in clinical laboratory, *J Bras Patol Med Lab*, v. 53, n. 6, p. 382-387, December 2017
- [66]. **Cohen AM, Cycowitz Z, Mittelman M, Lewinski UH, Gardyn J.** The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. *Haematologia.* 2000; 30(8): 117-21.
- [67]. **Pantelis E. Makris, Prof., Zoi Foka, M.D., Grigoris T. Gerotziafas, M.D., Anna Kioumi, M.D., and Eleutheria Pithara, Ph.D.** Pseudothrombocytopenia: A Rare Phenomenon. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis*, Vol. 4, N. 3, 1998

-
- [68].**Ayse Isik, MD, Ozlem Sahin Balcik, MD, Derya Akdeniz, MD, Handan Cipil, Sema Uysal, MD, and Ali Kosar, MD:** Relationship Between Some Clinical Situations, Autoantibodies, and Pseudothrombocytopenia. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 18(6):645-649 ©The Author(s) 2012 Reprints and permission: sagepub.com/journalsPermissions.nav
- [69].**Shrestha A, Karki S:** Evaluation of EDTA induced pseudothrombocytopenia and the effect of alternative anticoagulants, *Journal of Pathology of Nepal* (2014) Vol. 4, 626 -629.
- [70].**Paul Fromm and Mira Barak:** Prevalence and course of pseudothrombocytopenia in outpatients, *ClinChem Lab Med* 2011; 49(1):111–114 © 2011 by Walter de Gruyter • Berlin • New York. DOI : 10.1515/CCLM.2011.013.
- [71].**Federico Silvestri, Luigi Virgolini, Chiara Savignano, Francesco Zaja, Marinella Velisig, Michele Baccarani.** EDTA-Dependent Incidence and Diagnosis of Pseudothrombocytopenia in Consecutive Outpatient Population Referred for Isolated Thrombocytopenia. *Vox Sang* 1995; 68:35-39
- [72].**Irfan Yavasoglu, MD, Bilal Acar, MD, Gurhan Kadikoylu, MD, Zahit Bolaman, MD:** Platelet Aggregation Tests Are Affected in Pseudothrombocytopenia, August 2010. Volume 41 Number 8. LABMEDICINE.
- [73].**Neville Berkman, Yossef Michaeli, Reuven Or, and Amiram Eldor:** EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia: A Clinical Study of 18 Patients and a Review of the Literature. *American Journal of Hematology* 36:195-201 (1991)
- [74].**J.D. Sweeney, S. Holme, W.A.L. Heaton, D. Campbell, AND M.L. Bowen:** Pseudothrombocytopenia in plateletpheresis donors. *TRANSFUSION* 1995-Vol. 35, No. 1
- [75].**Onder O, Weinstein A, Hoyer LW:** Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 56:177-182, 1980
- [76].**Fanny GRANAT :** Agrégation plaquettaire in vitro : Effets anticoagulants du CTAD et utilisation à des fins diagnostiques dans les espèces sensibles. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), délivré le 13 avril 2016.
- [77].**Jacob I. Haft, M.D., F.G.G.P., and Yale S. Arkel, M.D:** Effect of Emotional Stress on Platelet Aggregation in Humans. *CHEST*, 70: 4, October 1976.
- [78].**Rafael Levites and Jacob I. Haft:** Effects of Exercise-Induced Stress on Platelet Aggregation. *Cardiology* 60: 304-314 (1975).
- [79].**Assia ; Benfeld H. ; Bethesda S.** Thrombopénies Et Agrégats Plaquettaires -Morphologie Des Rouges- Lettre d'information n°47. Laboratoire BIO67-BIOSPHERE. Octobre 2015
- [80].**D. P. Sheiner and al.** Pseudothrombocytopenia: manifestation of a new type of platelet agglutinin. *Blood* 1973, 42:541-549.
- [81].**Geok Chin Tan, Melissa Stalling, Gretchen Dennis, Maria Nunez, and Samir B. Kahwash:** Pseudothrombocytopenia due to Platelet Clumping: A Case Report and Brief Review of the Literature. *Case Reports in Hematology* Volume 2016, 4 pages.
- [82].**Izhar Shabnam, Chuphal D S, Joshi B C:** Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) – Dependent Pseudothrombocytopenia: A Case Report. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014 Oct, Vol-8(10): FL03-FL04.

ANNEXES

ANNEXE I

Coloration au May-Grunewald Giemsa

1- Fixation

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration.
 - Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis. **Laisser agir 3 minutes.**

2- Coloration au May-Grünwald

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

3- Coloration au Giemsa

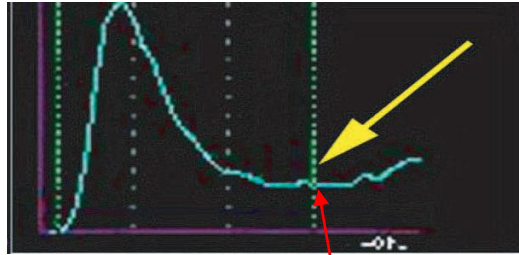
- Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm³ d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.
- Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès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

4- Séchage

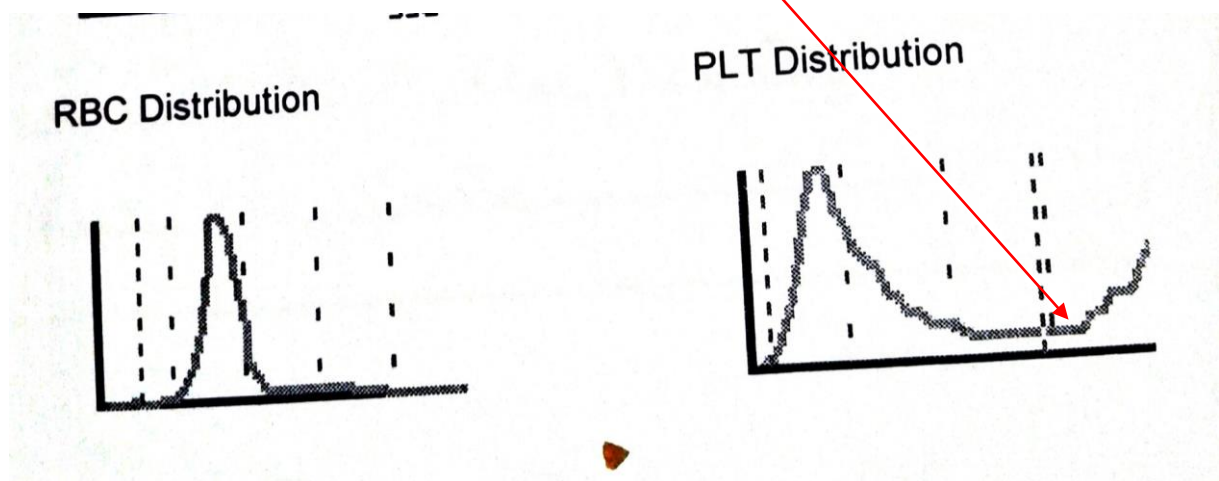
- Laisser sécher la lame à l'air, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre.
- Attendre au moins **5 minutes** avant l'examen microscopique du frottis

ANNEXE II

Histogramme de la distribution plaquettaire



Non-retour à la ligne de base



ANNEXE III

Automates.



Automate de coloration : RAL STAINER



Automate Advia 2120i



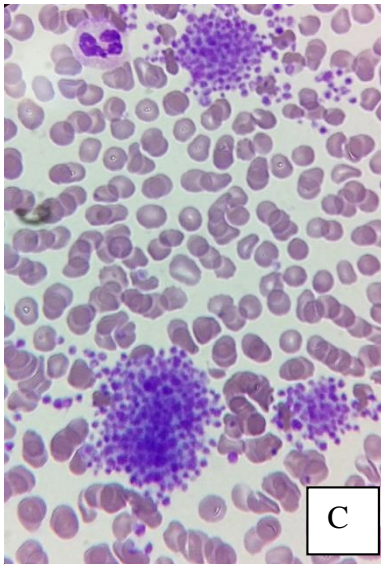
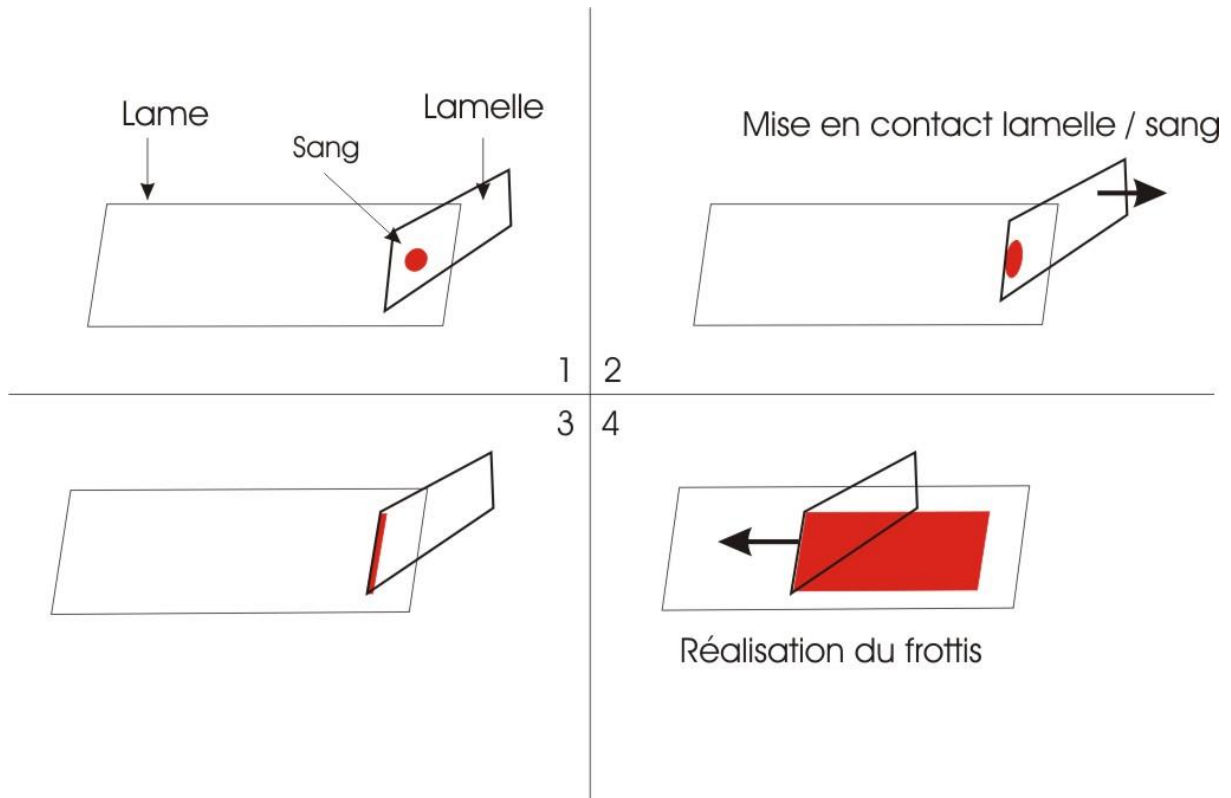
Automate Sysmex XT-1800i



Microscope optique

ANNEXE IV :

Technique du Frottis Sanguin



A et B : exemple de frottis sanguin réalisé au laboratoire d'Hémobiologie
C : photo d'agrégats plaquettaires prise au niveau de laboratoire d'Hémobiologie.

ANNEXE V :

Fiche de Renseignements.

**LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE CHUNEDIR MOHAMED
DIAGNOSTIC D'UNE PSEUDOTHROMBOPENIE**

FICHE DE RENSEIGNEMENTS PATIENTS

Service de consultation :

Date de consultation ou d'hospitalisation :/...../20....

➤ **VOLET PATIENT :**

TEL :

-Nom et prénom du patient :

-Age:.....

Sexe : Féminin Masculin

-Origine géographique :

-Motif de la consultation ou de l'hospitalisation :

➤ **VOLET CLINIQUE :**

-Mode de vie : Avez-vous du stress professionnel ? Oui Non

Faites-vous des activités physiques ? Oui Non

-Habitudes toxiques : Café Tabac Alcool

-Avez-vous fait un Effort physique dans les 3 derniers jours : Oui Non

-Avez-vous peur de la prise de sang : Oui Non

-Votre alimentation journalière est :

Riche en lipides Riche en sucre Riche en protéine

-Pathologie particulières associé :

-Antécédents de chirurgie et/ou de traumatisme sans hémorragie :

Oui Non Non connus

-Splénectomisé : Oui Non Efficacité : Oui Non

-Souffrez-vous de purpura thrombopénique ? Oui Non

-Souffrez-vous de thrombopénies suite à la prise de l'héparine ? Oui Non

-Avez vous déjà été transfusé ? Oui Non

Si oui préciser : CP CG Plasma

-Avez-vous ?

- | | |
|--|---|
| <input type="radio"/> Une infection virale et/ou bactérienne | <input type="radio"/> Diabète sucré |
| <input type="radio"/> Maladie inflammatoires chronique | <input type="radio"/> Traumatisme aigu |
| <input type="radio"/> Hypertension | <input type="radio"/> Pathologie auto immunes |
| <input type="radio"/> Tuberculose | |
| <input type="radio"/> Un syndrome métabolique (hyperlipidémies endogène) | |

-Traitement en cours : Oui Non Si oui, lequel(s) ?

-Médicaments interférant avec les fonctions plaquettaires (aspirine, AINS)

-Autre pathologie de sang :

-Avez-vous changée d' inisulino-thérapie ? Oui Non

-Prenez-vous du Rituximab (MABTHERA) ? Oui Non

-Autres médicaments:

➤Nouveau-né :

-La mère souffre-t-elle de thrombopénie ? Oui Non

-Le sang est-il pris à partir de cordon ombilical avec EDTA ? Oui Non

-Le test est-il fais immédiatement ? Oui Non

➤VOLET PRE-ANALYTIQUE :

-Type de prélèvement : Veineux Capillaire

-Evaluation de la difficulté de prélèvement :

Facile Peu facile Difficile

- Volume de prélèvement :

Mal rempli Remplissage respecté Trop rempli

-Délais entre prélèvement et analyse :.....(h)

-Prélèvement fait à : Froid Température ambiante

-Homogénéisation des tubes : Forte Normale Absente

-Transport des échantillons : Température.....C°

➤VOLET ANALYTIQUE :

-Taux de plaquettes sur tube EDTA avant chauffage :G/L

-Taux des globules blanc :G/L

-Volume moyen des plaquettes (VPM) :FL

-Taux de plaquettes sur automate après chauffage :G/L

-VPM après chauffage :FL

-Taux de plaquettes sur tube citraté =N=.....G/L

-Correction mathématique du taux des plaquettes sur tube citraté = N*1,1=.....G/L

➤Critères d'évaluation et de compréhension des erreurs de numération plaquettaire :

Critères biologiques : [Frottis sanguin]

-La richesse : + ++ +++

- Aspect morphologique :

- Microplaquette
- Anisocytose plaquettaire
- Agrégats plaquettaires
- Macroplaquette
- Plaquettes géantes
- satellitisme des plaquettes aux PNN

➤Commentaire :

.....

.....

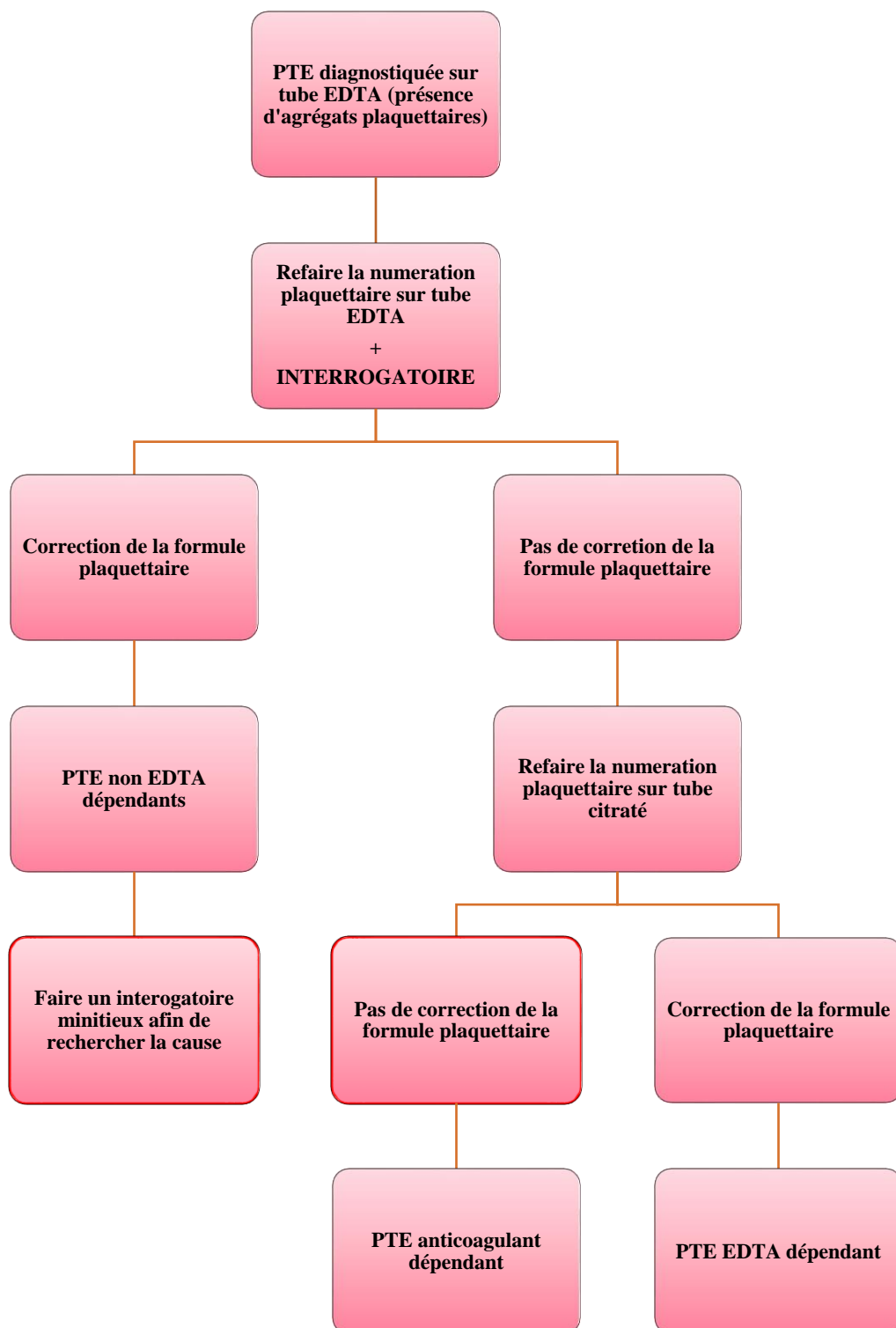
.....

.....

.....

ANNEXE VI :

Conduite à tenir devant la pseudothrombopénie.



Résumé

La thrombopénie artéfactuelle ou pseudothrombopénie est un compte plaquettaire diminué par rapport aux valeurs normales, due aux conditions de réalisation de l'hémogramme et cela lorsqu'il n'y a pas de diminution du taux de plaquettes in-vivo. Il s'agit d'une étude descriptive prospective de 4 mois, réalisée au laboratoire d'Hémiobiologie du CHU Tizi Ouzou dont l'objectif est d'étudier le profil épidémiologique, clinique, pré analytique et analytique des patients ayant présenté des fausses thrombopénies. Nous avons recensé **266** cas de thrombopénie et seulement 51 cas se sont révélés des pseudothrombopénies, 21% était des pseudothrombopénies, avec une incidence de 0,26% des hémogrammes réalisés. Un sex-ratio homme /femme de 1.04. L'âge moyen était de $44 \pm 22,5$ ans, 82.4% des cas étaient sous traitement, 33.3% des patients ont été transfusés. 45,1% étaient difficiles à prélever. La moitié des cas étaient observés deux heures après le prélèvement. Le prélèvement citraté corrige cet artéfact avec 84,3% des cas étaient dans l'intervalle de référence. La fausse thrombopénie est observée essentiellement chez les patients avec HTA à 37.3%. La transfusion d'une grande quantité de PSL pourrait être à l'origine de la fausse thrombopénie. L'implication des conditions pré analytiques, tel que la qualité du prélèvement, la durée entre prélèvement et analyse et le type de l'anticoagulant utilisé, a été observée. Il est impératif de comprendre les différents éléments qui interviennent dans ce phénomène in vitro, afin d'éviter toute décision clinique inappropriée ou des interventions thérapeutiques inutiles et d'établir une démarche diagnostic étiologique devant la découverte d'une fausse thrombopénie.

Mots-clés : *pseudothrombopénie, thrombopénie, artéfact, agrégats*

Abstract

Artifactual thrombocytopenia or pseudothrombocytopenia is a decreased platelet count compared to normal values, due to the conditions of completion of the hemogram and that when there is no decrease in in vivo platelet count. This is a prospective 4-month descriptive study, carried out in the Hemobiology laboratory of Tizi Ouzou University Hospital, whose objective is to study the epidemiological, clinical, pre-analytical and analytical profile of patients who have presented false thrombocytopenia. We found 266 cases of thrombocytopenia and only 51 cases were found to be pseudothrombocytopenia, 21% were pseudothrombocytopenia, with an incidence of 0.26% of the complet blood counts. A male to female sex ratio of 1.04. The mean age was 44 ± 22.5 years, 82.4% of cases were on treatment, and 33.3% of patients were transfused. 45.1% were difficult to withdraw. Half of the cases were observed 2 hours after collection. The citrate sample corrects this artifact with 84.3% of the cases being in the reference range. False thrombocytopenia is observed mainly in patients with HTA at 37.3%. Transfusion of a large amount of PSL could be the cause of false thrombocytopenia. The implication of the preanalytical conditions, such as the quality of the sample, the duration between sampling, analysis, and the type of anticoagulant used, has been observed. It is imperative to understand the various elements involved in this in vitro phenomenon in order to avoid any inappropriate clinical decision or unnecessary therapeutic interventions and to establish an etiological diagnosis approach in the face of the discovery of false thrombocytopenia.

Keywords: *pseudothrombocytopenia, thrombocytopenia, artifact, aggregates*