

Revue microscopique du frottis sanguin : *propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC)*

F. GENEVIÈVE¹, A.C. GALOISY², D. MERCIER-BATAILLE³,
O. WAGNER-BALLON⁴, F. TRIMOREAU⁵, O. FENNETEAU⁶,
F. SCHILLINGER⁷, V. LEYMARIE^{5,8}, S. GIRARD⁹, C. SETTEGRANA¹⁰,
S. DALIPHARD¹¹, V. SOENEN-CORNU¹², M. CIVIDIN¹³, J.F. LESESVE¹⁴,
B. CHÂTELAIN¹⁵, X. TROUSSARD¹⁶, V. BARDET¹⁷
pour le Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire

RÉSUMÉ

Malgré le perfectionnement des analyseurs automatisés d'hématologie destinés à la réalisation des hémogrammes, l'examen du frottis sanguin au microscope reste indispensable lorsque les données fournies par les appareils sont qualitativement ou quantitativement anormales ou demandent une confirmation. Si la plupart des critères conduisant à l'examen du frottis sanguin sont largement reconnus et utilisés, les pratiques de laboratoires restent cependant très hétérogènes, comme nous avons pu le constater lors d'une enquête multicentrique. Dans le but de participer à l'harmonisation et à la standardisation des pratiques d'hématologie cellulaire indispensables dans le cadre de la démarche d'accréditation, le Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) a souhaité revoir en détail les critères de l'hémogramme requérant une analyse cytomorphologique du frottis sanguin et les encadrer par des recommandations minimales. Les conclusions du GFHC présentées dans cet article relèvent d'un « accord professionnel fort » et sont exposées avec leur rationnel, définissant les seuils et les situations pour lesquels la revue du frottis sanguin est souhaitable. Elles sont proposées comme des recommandations minimales du GFHC, formulées pour la vérification technique et la validation biologique, chaque biologiste restant libre d'utiliser des seuils plus restrictifs en fonction de son recrutement.

MOTS-CLÉS : frottis sanguin, critères d'étalement, revue au microscope, formule optique.

¹ Laboratoire d'Hématologie, CHU d'Angers.

² Laboratoire d'Hématologie, CHU de Strasbourg.

³ Laboratoire d'Hématologie, CHU Nord, Marseille.

⁴ Laboratoire d'Hématologie, CHU H. Mondor, Créteil.

⁵ Laboratoire d'Hématologie, CHU Dupuytren, Limoges.

⁶ Laboratoire d'Hématologie, CHU R. Debré, Paris.

⁷ Laboratoire d'Hématologie, EFS Franche-Comté, Besançon.

⁸ LABM, Brive la Gaillarde.

⁹ Laboratoire d'Hématologie, Hospices Civils de Lyon / CH Lyon Sud - Centre de Biologie Sud - Service d'hématologie cellulaire.

¹⁰ Laboratoire d'Hématologie, CHU Pitié-Salpêtrière.

¹¹ Laboratoire d'Hématologie, CHU de Reims.

¹² Laboratoire d'Hématologie, CHU de Lille.

¹³ Laboratoire d'Hématologie, CH d'Aix-en-Provence.

¹⁴ Service d'Hématologie biologique, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy.

¹⁵ Laboratoire d'Hématologie, CHU Mont-Godinne, Yvoir, Belgique.

¹⁶ Laboratoire d'Hématologie, CHU Côte de Nacre, Caen.

¹⁷ Service d'Hématologie biologique, Hôpitaux universitaires Paris Centre, INSERM U1016 UMR8104, Université Paris Descartes, Paris.

I. - OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE

Malgré le perfectionnement des analyseurs automatisés d'hématologie destinés à la réalisation des hémogrammes, l'examen du frottis sanguin au microscope reste indispensable lorsque les données fournies par les appareils sont qualitativement ou quantitativement anormales, ou demandent une confirmation. Il apporte alors des informations que l'analyseur d'hématologie seul ne peut pas fournir, permettant dans nombre de cas la validation technique du résultat, par exemple lorsque des alarmes de l'automate signalent des difficultés d'identification cellulaire ou l'existence d'une possible interférence. En outre, c'est de l'analyse morphologique que découle le plus souvent un conseil au clinicien quant à l'interprétation et à la conduite à tenir devant le résultat anormal : certaines hypothèses diagnostiques peuvent ainsi être écartées ou bien la mise évidence d'anomalies morphologiques peut parfois conduire à un diagnostic plus précis.

Si la plupart des critères conduisant à l'examen du frottis sanguin sont largement reconnus et utilisés, les pratiques des laboratoires restent cependant très hétérogènes. Les attitudes et les seuils de décision peuvent en effet varier en fonction de nombreuses raisons : nombre d'hémogrammes réalisés, profils de recrutement des patients, expérience et habitudes des biologistes, type d'analyseur d'hématologie, ressources humaines disponibles, attentes des cliniciens, etc. Les efforts de rationalisation et de standardisation des pratiques de laboratoire, impulsés par les contraintes médico-économiques et la médicalisation de plus en plus reconnue du rôle des biologistes, ont donné lieu ces dernières années à la publication de recommandations dans la littérature internationale (1-7). Si des différences persistent, toutes les attitudes préconisées tendent vers la pertinence clinique de la revue du frottis sanguin et un message hémato-cytologique ayant pour objectif la prise en charge optimale des patients. De fait, les seuils utilisés peuvent s'écarter parfois très nettement des valeurs reconnues comme normales (8-13).

Dans le but de participer à cette harmonisation/standardisation des pratiques d'hématologie cellulaire et d'aider les biologistes dans leur démarche d'accréditation, le Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) a souhaité revoir en détail les critères de l'hémogramme requérant une analyse cytomorphologique du frottis sanguin et les encadrer par des recommandations minimales. Dans l'esprit du travail initié en 2002 par Berend Houwen et ayant abouti en 2005 aux recommandations du groupe de consensus de l'*International Society of Laboratory of Hematology* (ISLH) (1), un groupe de travail constitué de 17 experts francophones en hématologie cellulaire adulte et/ou pédiatrique émanant de centres hospitaliers universitaires (CHU), de centres hospitaliers généraux (CHG) et de centres avec activité libérale, s'est réuni lors de trois journées en mai et juin 2013 pour réexaminer les critères de l'hémogramme automatisé justifiant ou nécessitant l'examen microscopique du frottis sanguin. Les réflexions

et propositions du groupe se sont basées sur une analyse critique des recommandations déjà diffusées dans la littérature (1-7), ainsi que sur un état des lieux des pratiques de laboratoire dressé à partir d'un panel de 39 laboratoires réalisant quotidiennement un grand nombre d'hémogrammes et ayant accepté de répondre à un questionnaire sur les seuils et critères d'étalement utilisés (<http://www.gfhc.fr/fr/actualites/theme4-etudes-en-cours/id-69-recommandations-sur-les-criteres-de-revue-des-frottis-sanguins>). Ces laboratoires regroupaient 3 laboratoires d'exercice libéral, 7 laboratoires polyvalents de CHG et 29 laboratoires d'hématologie de CHU. L'ensemble du parc des principaux analyseurs d'hématologie présents sur le marché était représenté.

Les données de l'hémogramme automatisé ont été reprises une à une, prenant en compte les informations liées au patient et à la prescription de l'hémogramme, les valeurs normales de références publiées chez l'enfant et l'adulte (8-13), les valeurs reconnues comme seuils probablement pathologiques de la numération globulaire et de la formule leucocytaire, et les alarmes qualitatives communes aux différents analyseurs (déclenchées avec le réglage « fournisseur »). Les situations initiales et les situations de suivi ont chaque fois été considérées et l'utilité d'un « delta-check » discutée. En outre, le groupe bénéficiant de l'expérience de plusieurs centres d'hématologie pédiatrique, les particularités concernant les enfants ont été examinées. Enfin, des évaluations prospectives et rétrospectives ont permis de valider certains critères prêtant le plus à discussion, soit du fait de leur impact sur le nombre de frottis générés, soit du fait d'un consensus non atteint au sein du groupe.

Les conclusions du groupe relèvent d'un « accord professionnel fort » et sont exposées ci-après avec leur rationnel, définissant les seuils et les situations pour lesquelles la revue du frottis sanguin est souhaitable. Elles sont proposées comme recommandations minimales du GFHC, formulées pour la vérification technique et la validation biologique, et se veulent applicables par tous les laboratoires d'exercice libéral, de CHG ou de CHU, sans préjuger du type ou de la marque de l'analyseur d'hématologie utilisé. Elles tiennent pour préalablement acquis le strict respect des recommandations en vigueur concernant la phase préanalytique de l'hémogramme (15, 16), ainsi qu'une bonne connaissance de l'automate et de sa qualification selon la norme ISO15189 (17) par le biologiste pour adapter au mieux les recommandations à sa pratique quotidienne.

II. - DÉFINITIONS DES TERMES UTILISÉS ET CONVENTIONS

A) Notions de situation initiale et de suivi

Les termes de « première fois » (« initial », « first time ») et de « suivi » (« follow up ») souvent utilisés dans les recommandations publiées dans la littérature peuvent

présenter des nuances qu'il faut veiller à prendre en compte pour l'écriture des procédures standardisées de laboratoire. Concernant le processus de vérification technique ou de validation biologique conduisant à l'examen du frottis sanguin, nous considérons une situation ou une anomalie de l'hémogramme comme « initiale » dans trois cas : a) absence d'antériorité d'hémogramme disponible pour le patient ; b) anomalie non présente sur l'hémogramme précédent ; c) hémogramme réalisé au-delà d'un certain délai écoulé depuis le dernier examen cytomorphologique (> 90 jours pour un adulte, > 30 jours pour un enfant). Dans les trois cas, le résultat anormal peut être observé pour la première fois chez le patient, traduisant une situation clinique nouvelle ou évolutive, que l'examen du frottis pourra aider à diagnostiquer ou à préciser. Dans le troisième cas, l'anomalie observée peut aussi être déjà connue, au cours d'une pathologie chronique par exemple : un nouvel examen cytomorphologique se justifie alors au-delà d'un certain délai pour détecter une possible modification de la situation hématologique du patient (par exemple, l'apparition au cours du temps d'anomalies morphologiques ou d'un petit nombre de blastes circulants dans le cadre d'un syndrome myélodysplasique). Par convention, nous retenons donc comme repère la dernière antériorité comportant un examen microscopique du frottis sanguin et non le dernier hémogramme du patient.

Une même anomalie constatée sur des hémogrammes consécutifs chez un patient adulte étant très souvent liée à une pathologie chronique, peut justifier de ne pas réitérer trop souvent et inutilement l'examen du frottis, tout en n'ignorant pas cependant la survenue d'une situation nouvelle. Au vu des différentes anomalies considérées, un délai maximal de 90 jours entre deux examens du frottis nous apparaît comme un bon compromis pour valider les résultats de l'hémogramme. Chez l'enfant, le délai retenu est de 30 jours, les anomalies de l'hémogramme traduisant des situations cliniques beaucoup plus souvent aiguës que chroniques.

En dehors de ces situations décrites, le patient est considéré en « suivi » et le contexte clinico-biologique est supposé suffisamment bien identifié par le biologiste : en l'absence de tout élément nouveau ou de critère imposant l'examen systématique du frottis, le résultat pourra être validé sans recourir à un nouvel étalement, celui-ci ne présentant *a priori* pas de réelle valeur ajoutée.

B) Enfant / adulte

Un sujet adulte est défini par un âge supérieur ou égal à 15 ans, un enfant par un âge inférieur à 15 ans.

III. - RECOMMANDATIONS GFHC DE REVUE MICROSCOPIQUE DU FROTTIS SANGUIN

Les indications proposées ci-après ont été établies en considérant individuellement chaque type d'anomalie ou

de situation. Selon l'éventuelle association de plusieurs types d'anomalies ou de l'existence d'autres indicateurs donnés par les automates d'hématologie, elles peuvent être modulées et adaptées par les biologistes dans la mesure où ces renseignements complémentaires rendent plus sensible et plus spécifique la recherche des anomalies morphologiques.

A) Recommandations relatives aux informations concernant le patient

1) Faut-il revoir systématiquement les frottis sanguins en fonction de la classe d'âge des patients ?

L'âge du patient n'apparaît pas un critère en soi chez l'adulte. Au cours de la première semaine de vie après la naissance, l'examen du frottis est préconisé au moins lors d'un premier hémogramme, en raison de la fréquente érythroblastémie (voir plus loin « Indications relatives à la formule leucocytaire »). Chez l'enfant de moins d'un an hospitalisé en service de pédiatrie spécialisée, le frottis systématique lors du premier hémogramme est conseillé, la plupart des pathologies hématologiques constitutionnelles se déclarant lors de la première année de vie et ne se traduisant pas toujours par un hémogramme automatisé anormal (par exemple : sphérocytose héréditaire, elliptocytose héréditaire, maladie de surcharge...). En dehors de ce contexte, un résultat rendu par l'automate ne présentant pas d'anomalie quantitative ou qualitative peut être validé. Cependant, en pratique à cet âge, les alarmes qualitatives des automates sont très fréquentes et nécessitent presque systématiquement la revue du frottis sanguin.

2) Médecin prescripteur ou service d'hospitalisation

En analysant les réponses à l'enquête concernant les pratiques locales d'étalement, la question de revoir systématiquement les frottis pour les échantillons provenant de prescripteurs particuliers s'est posée (par exemple : hémogrammes d'onco-hématologie, de pédiatrie...). Une relecture systématique du frottis est retenue comme nécessaire pour les patients d'onco-hématologie pédiatrique, non connus ou sans examen cytomorphologique récent disponible, du fait notamment de la mauvaise sensibilité des automates à détecter les lymphoblastes quand ceux-ci sont présents en faible nombre (18). Hormis ce cas particulier, le critère n'est pas retenu comme devant justifier à lui seul l'examen du frottis : le biologiste peut « faire confiance » à son automate, à la condition de respecter les autres critères d'étalement et d'avoir préalablement qualifié l'automate.

3) Renseignement permanent associé aux informations concernant le patient

Chez un patient présentant une anomalie identifiée une première fois, l'enregistrement d'un commentaire permanent associé aux informations le concernant peut être utile pour traiter et valider de façon plus sécurisée et plus rapide les hémogrammes réalisés ultérieurement. Par exemple, la présence de cryoglobuline ou encore un phé-

Tableau I - Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux informations concernant le patient.

Âge	Adulte	Sans objet
	Enfant	< 8 jours, situation initiale ; < 12 mois, pédiatrie spécialisée, situation initiale
Médecin prescripteur ou service d'hospitalisation	Adulte	Sans objet
	Enfant	Onco-hématologie pédiatrique, première analyse
Information patient	Adulte/Enfant	Message permanent (ex. : cryoglobulinémie connue, leucoagglutination connue, etc.)
Prescription spécifique	Adulte/Enfant	Prescription spécifique d'analyse morphologique Prescription associée de myélogramme ou d'immunophénotypage Recherche de schizocytes : mode opératoire spécifique du laboratoire

nomène de leuco-agglutination, peut constituer un piège de la numération globulaire, parfois même sans qu'aucune anomalie quantitative ou qualitative ne soit associée et ne permette de déceler l'erreur analytique. Un message permanent signalant le fait chez le patient peut être utilisé comme critère pour déclencher une action spécifique comme une analyse à 37°C de l'échantillon ou la revue du frottis sanguin.

4) Prescription spécifique d'analyse morphologique

Elle implique nécessairement un examen du frottis et le rendu d'un commentaire explicite à l'attention du médecin prescripteur. En absence de cellules anormales (réactionnelles ou tumorales), la formule automatisée, plus précise, est rendue préférentiellement à la formule microscopique. La demande de recherche de schizocytes peut être gérée différemment, le biologiste responsable pouvant décider de la nécessité ou non d'un étalement selon qu'il utilise – et a qualifié pour cela – un automate détectant et quantifiant les fragments érythrocytaires (19). En cas de dénombrement requis, les schizocytes seront comptés selon les recommandations récemment publiées (20).

5) Prescription associée à l'hémogramme d'un myélogramme ou d'un immunophénotypage

L'examen du frottis sanguin est de bonne pratique, sinon indispensable pour guider ou compléter l'interprétation de ces examens.

La synthèse des critères d'étalement liés à une information relative au patient est présentée dans le [tableau I](#).

B) Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la numération globulaire

1) Numération leucocytaire

a) Anomalies quantitatives

En situation initiale, la valeur de la leucocytose n'apparaît pas en soi un bon critère décisionnel pour la réalisation d'un frottis, les données quantitatives et/ou qualitatives de la formule automatisée semblant plus utiles. En cas de leucopénie ou d'hyperleucocytose, il est recommandé d'analyser l'échantillon en mode formule automatisée si cette dernière n'est pas systématiquement réalisée d'emblée.

En situation de suivi, dans le cas particulier des patients recevant ou ayant reçu une chimiothérapie myélo-suppressive, il est recevable de ne pas réaliser de formule leucocytaire en cas de leucopénie < 1,0 G/l, si un accord passé entre le prescripteur et le laboratoire le prévoit. En dessous de ce seuil, si le suivi clinique requiert impérativement la numération des polynucléaires neutrophiles, le résultat de l'automate peut être délivré, le compte rendu mentionnant que la formule leucocytaire est celle de l'automate. Pour les patients atteints d'hémopathie, la récupération d'un taux de leucocytes ≥ 1 G/l est une indication à l'examen du frottis sanguin, celui-ci devant s'attacher à rechercher des cellules anormales témoignant d'une mauvaise réponse au traitement reçu. Le biologiste rend alors la formule la plus adaptée, du microscope ou de l'automate, selon qu'il a ou non observé la présence de cellules pathologiques.

b) Alarmes qualitatives

Tout message de l'analyseur traduisant un manque de fiabilité du compte des leucocytes doit faire interpréter et valider le résultat avec une grande vigilance et selon les directives préconisées par le fabricant. Une revue microscopique du frottis sanguin est utile pour identifier certains types d'interférences et pour guider la validation technique du résultat (21, 22).

2) Numération plaquettaire et indices plaquettaires

a) Anomalies quantitatives

Thrombocytose

En cas de thrombocytose (plaquettes > 450 G/l) observée en situation initiale, un examen du frottis peut être utile pour mettre en évidence certaines causes d'interférences à l'origine d'un compte faussement élevé des plaquettes (cryoglobulines, fragments d'hématies, débris cellulaires...) (20). Une fois le résultat des plaquettes considéré comme exact, le frottis sanguin peut orienter mais ne revêt pas de caractère impératif, n'apportant généralement pas d'argument formel pour affirmer l'existence d'un syndrome myéloprolifératif (fragments de mégacaryocytes circulants possibles au cours de la thrombocytémie essentielle, ou encore excès de basophiles, mal identifiés par certains types d'automates, pouvant révéler une exceptionnelle leucémie myéloïde chronique dans une forme thrombocytémique pure...). Les résultats avec

thrombocytose observés ultérieurement ne nécessitent pas de nouvel étalement.

Thrombopénie

Dans le cadre d'une thrombopénie (plaquettes < 150 G/l), observée soit en situation initiale, soit au cours d'un suivi mais avec un résultat hors delta-check, la recherche d'une interférence à l'origine d'un compte faussement diminué des plaquettes est la première étape systématiquement menée (recherche de caillot, d'amas, de fibrine, de macroplaquettes...) (20). Sur la base des courbes publiées par Berend Houwen (23), le delta-check retenu est de 50 %, avec un calcul se basant sur le résultat antérieur. En l'absence d'interférence identifiée, l'examen cytomorphologique du frottis sanguin est impérativement réalisé chez l'adulte si la thrombopénie est inférieure à 100 G/l, seuil en dessous duquel la mise en évidence d'anomalies d'intérêt clinique devient plus fréquente. Liberté est bien entendu laissée aux biologistes le désirant d'utiliser un seuil plus « contraignant », compris entre 100 et 150 G/l, ce d'autant qu'il existe d'autres anomalies/cytopenies associées. L'examen se concentrera sur la recherche d'anomalies leucocytaires (cellules anormales malignes ou réactionnelles, signes de dysmyélopoïèse), érythrocytaires (schizocytes, parasites intra-érythrocytaires...), et plaquettaires. Chez l'enfant de moins de 15 ans, la possibilité d'une anomalie constitutionnelle des plaquettes fait préférer le seuil de 150 G/l pour décider de l'examen microscopique.

Anomalie du volume plaquettaire moyen

Le volume plaquettaire moyen (VPM) ne fait pas partie des paramètres à rendre systématiquement sur le compte rendu de l'hémogramme (14), mais est déterminé par la plupart des analyseurs d'hématologie. Sa valeur est sujette à une grande variabilité selon le type ou la marque de l'automate utilisé (24), mais les valeurs de 6 ou 7 fl semblent cependant correspondre à la valeur inférieure à la normale pour les tous les types d'appareils actuellement sur le marché. Chez un patient non connu présentant une thrombopénie < 150 G/L, un examen cytomorphologique des plaquettes en cas de VPM < 7 fl est potentiellement utile, de même en cas de VPM retrouvé au-delà de la valeur normale haute indiquée par le fournisseur, ou en cas d'autre paramètre éventuellement rendu témoignant de la présence de grandes plaquettes.

b) Alarmes qualitatives et anomalies des graphes de l'analyseur

Suspicion d'amas plaquettaires

Quel que soit le résultat de numération plaquettaire rendu par l'analyseur, l'opérateur doit en situation initiale contrôler l'absence de coagulum dans l'échantillon puis rechercher des agrégats plaquettaires, soit par examen du frottis sanguin coloré, soit par examen au microscope en contraste de phase d'une goutte de sang à l'état frais entre lame et lamelle.

En cas de présence d'amas plaquettaires, le résultat de la numération plaquettaire est remplacé sur le compte rendu par le terme « amas » ou « agglutinats ». Si, pour indication au médecin clinicien, le biologiste souhaite délivrer le résultat par défaut rendu par l'automate, il doit le rendre sous forme d'un commentaire, afin que le résultat mentionné ne soit pas pris à tort comme un résultat exact. La conduite à tenir sera la même en cas de répétition de l'alarme sur les prélèvements ultérieurs.

En absence d'amas plaquettaires ou autre interférence diminuant artificiellement le nombre des plaquettes, le résultat de la numération plaquettaire peut être rendu et la vérification réalisée doit être tracée. Si l'alarme se répète lors de l'analyse des échantillons suivants, la recherche d'amas peut ne pas être réalisée de nouveau et le résultat des plaquettes peut être rendu.

Autres alarmes ou anomalies des graphes dédiés aux plaquettes

Elles sont pour la plupart redondantes avec celles liées à la numération et la répartition des globules rouges pour lesquelles les recommandations de revue du frottis sont exposées ci-après.

3) Numération érythrocytaire, taux d'hémoglobine et indices érythrocytaires, réticulocytes

a) Anomalies quantitatives

Polyglobulie

Devant un résultat montrant une polyglobulie (taux d'hémoglobine > normale pour l'âge et le sexe), l'examen du frottis sanguin n'apporte pas de valeur ajoutée en situation initiale comme dans le suivi.

Anémie

La constatation d'une anémie peut dans certaines situations permettre de détecter un problème préanalytique ou analytique, ou une pathologie chez le patient. L'orientation, après vérification de l'absence de coagulation dans le tube, est souvent guidée par la variation associée d'autres paramètres (volume globulaire moyen, leucocytes, plaquettes, réticulocytes...).

Chez l'adulte, en dehors de tout contexte évident d'hémorragie, devant une anémie normo- ou macrocytaire < 10 g/dl observée, soit initialement, soit au cours du suivi avec une différence > 25 % par rapport au résultat précédent, il est conseillé de réaliser en premier lieu une numération des réticulocytes. Cette démarche vise essentiellement à détecter rapidement les situations d'anémie hémolytique et l'examen du frottis est alors préconisé en cas d'hyperréticulocytose. Bien que la Société Française d'Hématologie retienne un nombre de réticulocytes > 150 G/l pour qualifier une anémie de « nettement régénérative » (25), le groupe préconise d'utiliser un nombre > 120 G/l pour décider de l'étalement sanguin.

En cas d'anémie sévère non connue (< 8 g/dl, seuil clinique de discussion transfusionnelle), l'examen du frottis

sanguin est indispensable, à la recherche d'anomalies morphologiques ou de cellules anormales. Si l'anomalie est à nouveau constatée ultérieurement, la revue du frottis sanguin n'offre pas de valeur ajoutée si l'ancienneté du dernier examen morphologique ne dépasse pas 90 jours.

Chez l'enfant, une numération des réticulocytes est conseillée devant la découverte d'une anémie normo- ou macrocytaire < 9 g/dl. Un examen morphologique du frottis sanguin est préconisé devant toute anémie < 9 g/dl observée, soit en première analyse, soit avec une différence > 25 % par rapport au résultat précédent. La revue du frottis n'offre pas de valeur ajoutée si l'ancienneté du dernier examen morphologique ne dépasse pas 30 jours.

Anomalie du volume globulaire moyen (VGM)

Chez les enfants âgés de moins de 6 mois, le VGM n'est pas un paramètre suffisamment informatif pour décider d'un étalement.

Au-delà de cet âge, en première visite et après avoir éliminé une situation artéfactuelle, une macrocytose (> 85 fl de 6 mois à 2 ans ; > 95 fl de 2 à 15 ans ; > 105 fl chez l'adulte) justifie la recherche d'une étiologie par la réalisation d'une numération des réticulocytes et l'examen cytomorphologique du frottis sanguin. Lors des hémogrammes ultérieurs, tant que le dernier résultat n'excède pas 90 jours chez l'adulte et 30 jours chez l'enfant, la revue du frottis sur la base de ce seul critère n'offre pas de réel intérêt. On tiendra compte cependant d'éventuelles variations importantes du VGM (> 5 %) pour dépister les erreurs d'identité ou les prélèvements effectués sur voies de perfusion (macrocytose hypochrome).

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

Anisocytose érythrocytaire

En situation initiale et en dehors d'un contexte connu de transfusion avec double population érythrocytaire, le groupe recommande – comme l'ISLH – l'examen du frottis en cas d'anomalie importante de la répartition volumétrique des hématies (IDR, indice de distribution des globules rouges ou CVGR, coefficient de variation du volume des globules rouges > 22 %). Outre la recherche d'anomalies morphologiques, le résultat est à interpréter avec le graphe de distribution des hématies et l'existence ou non d'une anémie associée. Le VGM perdant dans ce cas son caractère informatif, un commentaire « anisocytose

avec macrocytose, et/ou anisocytose avec microcytose » peut être associé au résultat. Il n'apparaît pas utile de renouveler l'examen pour ce seul critère dans la période de suivi.

Anomalie de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

Une valeur anormalement élevée de la CCMH (> 36 ou 37 g/dl selon l'automate) nécessite en premier lieu de rechercher une interférence (22). En l'absence de celle-ci, l'examen du frottis est préconisé à la recherche d'une anomalie corpusculaire (sphérocytes, hématies en cibles évocatrices d'hémoglobinoses C). Il apparaît redondant de déclencher l'étalement du frottis en raison d'une valeur basse de la CCMH, celui-ci étant généré par ailleurs selon la valeur de l'hémoglobine et/ou du VGM.

Anomalie de la numération des réticulocytes

Un nombre de réticulocytes > 120 G/l (anomalie initiale) correspond à une augmentation de l'érythropoïèse médullaire et justifie une analyse morphologique des hématies à la recherche d'anomalies en rapport avec une hémolyse. Cette recommandation est indépendante du taux d'hémoglobine associé, celui-ci pouvant être normal ou subnormal en cas d'anémie hémolytique bien compensée.

b) Alarmes qualitatives et anomalies des graphes des analyseurs

Alarme « Fragments érythrocytaires »

La revue du frottis est préconisée en cas d'association de cette alarme avec une anémie et/ou une thrombopénie.

Double population érythrocytaire

Alarme généralement associée à une anisocytose importante (voir plus haut), justifiant l'examen du frottis en situation initiale et hors contexte connu de transfusion.

Résistance à la lyse des globules rouges

La revue du frottis est nécessaire pour une analyse morphologique des hématies et la réalisation de la formule leucocytaire, celle rendue par l'automate étant potentiellement erronée.

Rejet de la numération des réticulocytes ou anomalie du graphe des réticulocytes

L'analyse critique du graphe en cas d'anomalie ou d'alarme générée par l'automate est importante pour décider d'une numération des réticulocytes au microscope sur frottis coloré au bleu de Crésyl. Sur les automates fournissant l'information, il est important de vérifier la cohérence entre la valeur absolue des réticulocytes et leur niveau de fluorescence. En cas d'hyperréticulocytose > 120 G/l, il est conseillé de réaliser un frottis sanguin pour rechercher des anomalies morphologiques des hématies.

La synthèse des critères d'étalement liés à une anomalie de la numération est présentée dans le [tableau II](#).

Tableau II - Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la numération globulaire.

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

C) Indications relatives à la formule leucocytaire**1) Présence de cellules anormales sur l'antériorité**

Chez un patient présentant des cellules malignes détectées lors de la formule leucocytaire immédiatement précédente, il n'est pas licite de rendre la formule automatisée sans examen préalable du frottis sanguin (même si le résultat est assorti d'un commentaire mentionnant que le patient est connu avec des cellules pathologiques). Si l'examen montre la persistance des cellules malignes, la formule est à réaliser au microscope. Dans le cas particulier du suivi de la leucémie lymphoïde chronique, c'est la formule automatisée qui est préférentiellement rendue, en raison du risque de surestimation des populations non lymphocytaires au microscope. Dans le cadre des autres hémopathies lymphoïdes chroniques à petites cellules matures, les cellules lymphoïdes normales et anormales peuvent être regroupées dans le compte lymphocytaire, le compte rendu signalant par un commentaire la persistance de cellules lymphoïdes pathologiques.

2) Présence d'érythroblastes

Qu'ils soient ou non comptabilisés par l'automate, la première détection d'érythroblastes circulants chez un patient (en dehors de la période néonatale) revêt un caractère pathologique et justifie la réalisation d'un frottis sanguin à la recherche d'anomalies associées des autres lignées. S'ils n'ont pas été quantifiés par l'automate, les érythroblastes seront décomptés en parallèle des leucocytes afin de corriger le nombre de ceux-ci. La présence d'érythroblastes sur l'antériorité d'un patient justifie le passage sur l'automate dans un mode permettant la détec-

tion des érythroblastes (formule ou canal spécifique). Le frottis n'est pas nécessaire pour le suivi en dehors du cas où l'automate ne quantifie pas les érythroblastes, justifiant alors la réalisation d'une formule microscopique.

3) Présence d'une anomalie quantitative d'une sous-population leucocytaire**a) Neutropénie**

En cas de neutropénie $<$ 1,5 G/l observée en situation initiale, l'examen microscopique du frottis sanguin est impératif, afin de détecter les fausses neutropénies par agglutination (26), de rechercher la présence de cellules pathologiques ou de détecter des anomalies morphologiques. Une technique de leucoconcentration ou le paramétrage spécifique d'un microscope automatisé le cas échéant, peut éventuellement être mis en œuvre pour rendre plus sensible la recherche des cellules anormales. En l'absence d'anomalie sur le frottis, il est préférable de rendre la formule de l'automate en raison des imprécisions liées au décompte sur 100 éléments pour des éléments peu représentés (27). Pour les hémogrammes réalisés ultérieurement chez un adulte, le frottis sanguin est conseillé si l'examen microscopique précédent date de plus de 90 jours, *a fortiori* si la neutropénie se majore (une différence de 30 % est proposée). Il sera refait au-delà de 30 jours s'il s'agit d'un enfant.

b) Polynucléose neutrophile

Contrairement à ce que préconise l'ISLH, la réalisation d'un frottis ne nous paraît pas devoir être motivée par une polynucléose neutrophile, quelle que soit son importance,

si elle reste isolée. L'examen microscopique n'offre dans cette situation pas de véritable valeur ajoutée au résultat de l'automate et il n'existe pas à notre connaissance d'interférence analytique morphologiquement identifiable pouvant se traduire isolément par ce type d'anomalie (28).

c) Hyperéosinophilie

En situation initiale, la revue du frottis est préconisée en cas de nombre de polynucléaires éosinophiles > 1,5 G/L. L'examen permettra parfois la mise en évidence de micro-filaires, ou de cellules lymphomateuses, certains lymphomes (surtout de la lignée T) pouvant être associés à une hyperéosinophilie (29). En situation de suivi, la revue du frottis n'apporte pas d'information supplémentaire.

d) Hyperbasocytose

En situation initiale, un nombre de polynucléaires basophiles > 0,3 G/L et/ou représentant > 3 % des leucocytes justifie l'examen microscopique afin de rechercher des anomalies en faveur d'un syndrome myéloprolifératif ou la présence de leucocytes anormaux parfois classés en polynucléaires basophiles par certains automates (cellules lymphomateuses, cellules de surcharge dans le cadre des mucopolysaccharidoses) (30). En cours de suivi, la revue du frottis n'est pas nécessaire.

e) Hyperlymphocytose

En situation initiale chez l'adulte et l'enfant de plus de 12 ans, la revue du frottis sanguin est recommandée pour la recherche de cellules anormales (réactionnelles ou malignes) en cas de lymphocytose > 5 G/L. Chez l'enfant de moins de 12 ans, les seuils proposés sont de 11 G/l (âge < 2 ans), 9 G/L (âge ≥ 2 ans et < 6 ans), et 6 G/l (âge ≥ 6 ans et < 12 ans). En l'absence de cellules anormales, la formule de l'automate est préférable à la formule microscopique. Pour une hyperlymphocytose à nouveau observée sur les hémogrammes ultérieurs, la réalisation d'un

frottis sanguin est recommandée si le dernier examen microscopique remonte à plus de 90 jours chez un adulte et à plus de 30 jours chez un enfant.

f) Lymphopénie

La constatation d'une lymphopénie sur un résultat d'hémogramme est une situation relativement fréquente, mais en identifier la cause par l'examen du frottis sanguin est en revanche une occurrence trop rare pour retenir cette anomalie comme critère d'étalement. Les lympho-agglutinations *in vitro* EDTA-dépendantes sont exceptionnelles et restent sans conséquences cliniques (31).

g) Monocytose

La revue du frottis sanguin est préconisée devant une monocytose > 1,5 G/l découverte sur un premier hémogramme, quel que soit l'âge du patient. Elle permet de vérifier la réalité de la monocytose, diverses situations pouvant rendre malaisée l'identification des monocytes par les automates d'hématologie (déficit en myéloperoxydase, présence de cellules anormales localisées près du nuage monocytaire, activation des monocytes au cours des états infectieux sévères...) (28). Elle permet également de rechercher des anomalies morphologiques et/ou des cellules malignes pouvant orienter vers une pathologie monocytaire aiguë ou chronique.

Au cours du suivi, une monocytose > 1,5 G/l persistant plus de 30 jours fait recommander un nouvel examen du frottis, particulièrement orienté vers la recherche d'anomalies en faveur d'une leucémie myélo-monocytaire chronique ou d'une leucémie myélo-monocytaire juvénile. Une monocytose apparaissant en cours d'hospitalisation est le plus souvent réactionnelle et transitoire (dans un contexte chirurgical par exemple) ; elle justifie un contrôle morphologique si elle est importante (seuil à définir par chaque laboratoire).

Tableau III - Indications d'examen du frottis sanguin relatives aux résultats de la formule leucocytaire.

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

h) Monocytopénie

Une monocytopénie sanguine absolue est presque toujours observée au cours de la leucémie à tricholeucocytes et sa constatation sur l'hémogramme automatisé devrait en théorie représenter un bon critère pour déclencher la recherche microscopique de ces éléments pathologiques. En pratique cependant, les tricholeucocytes sont dans la plupart des cas comptés à tort comme des monocytes par les analyseurs et la formule automatisée ne montre alors pas de monocytopénie... De ce fait, c'est bien davantage la constatation d'une neutropénie chez un adulte d'âge mûr qui doit à notre sens inciter le biologiste à rechercher des tricholeucocytes sur le frottis sanguin.

4) Alarmes qualitatives et anomalies des graphes leucocytaires

Alarme « Déviation gauche »

La revue du frottis et la réalisation d'une formule optique ne sont pas nécessaires dans ce cas. Les indices de diffraction permettant de détecter une hyposegmentation ou une hypogranularité semblent plus intéressants à utiliser lorsqu'ils sont disponibles, afin de détecter la dysplasie granulocytaire.

Alarme « Granulocytes immatures »

En situation initiale ou en suivi, cette alarme nécessite la réalisation d'une formule optique si l'automate n'effectue pas la quantification de cette population. Avec les automates qualifiés pour ce type de numération et en fonction des recommandations du fabricant, il est préconisé de revoir le frottis en situation initiale, mais celui-ci n'apparaît pas indispensable au cours du suivi.

Alarmes « Lymphocytes anormaux ? » et « Blastés ? »

Ces alarmes imposent, à chaque fois, la réalisation du frottis sanguin. En l'absence de cellules anormales (réactionnelles ou malignes), la formule de l'automate est préférentiellement rendue.

Graphe leucocytaire anormal, sans alarme générée par l'automate

En cas de mauvaise séparation des sous-populations leucocytaires et chaque fois que l'anomalie se présente, une formule microscopique doit être réalisée.

La synthèse des critères d'étalement liés à une anomalie de la formule leucocytaire est présentée dans le [tableau III](#).

IV. - DISCUSSION

Les recommandations présentées ci-dessus pour la revue du frottis sanguin ou la réalisation d'une formule leucocytaire sont issues d'une réflexion menée au sein du GFHC et coordonnée par ses experts. Nous les avons éta-

blies en reprenant une à une les anomalies quantitatives et qualitatives de l'hémogramme, guidés par le double objectif de conserver une bonne sensibilité diagnostique tout en gardant une maîtrise du nombre des étalements. L'ajustement consensuel des seuils proposés devrait permettre d'éviter la réalisation d'un nombre insuffisant d'étalements, situation pouvant conduire à ignorer des erreurs analytiques ou des situations pathologiques, et *a contrario* la réalisation d'un nombre excessif de frotis, source d'une dérive des coûts (réactifs, temps technicien, temps biologiste) et potentielle source d'erreur (baisse du niveau d'analyse critique et du seuil de vigilance de l'observateur).

La publication de recommandations suscite toujours à la fois frustrations et polémiques, mais il ne faut pas perdre de vue qu'elles doivent représenter une base applicable pour la majorité. Ces recommandations pratiques traduisent à notre sens l'attitude minimaliste que doit adopter le biologiste face à des résultats très anormaux de l'hémogramme, considérés chacun isolément, et au-delà desquels l'absence de contrôle microscopique représente un risque plus important d'ignorer une information critique pour la validation biologique ou pour le clinicien prescripteur. Si ce risque n'est pas nul pour des résultats compris entre les valeurs reconnues comme « normales » et les seuils que nous avons retenus, les évaluations menées à la fois au niveau du groupe mais aussi par d'autres équipes pour des règles communément admises, permettent de le considérer comme acceptable si le taux de « faux négatifs » reste < 5 %. Liberté est laissée aux biologistes qui le souhaitent de contrôler de façon plus stricte leurs résultats en utilisant des seuils moins « pathologiques » que ceux proposés. Ces recommandations peuvent représenter une base susceptible d'adaptations en fonction des structures d'exercice, des spécificités de recrutement de chacun, ou de l'utilisation de systèmes experts, ces derniers autorisant maintenant l'association de règles multiples permettant une détection plus sensible des situations anormales avec une meilleure gestion des étalements.

Conflit d'intérêt : aucun

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier pour leur participation active à l'enquête sur les pratiques d'étalement : B. Berdin (Laval), A. Bouvier (Le Mans), E. Bichier (Saumur), C. Brumpt (Paris), M.P. Callat (Rouen) A. Clabé (La Réunion), C. Fossat (Marseille), F. Dubois-Galopin (Toulouse), E. Duchayne (Toulouse), P. Felman (Lyon), J. Guy (Dijon), J.P. Hurst (Le Havre), M. Imbert (Créteil), F. Le Baron (Valenciennes), P. Lemaire (Paris), P. Lepelley (Lille), M. Mallet (Caen), K. Maloum (Paris), V. Marion (Brest), J.M. Martelli (Meulan), C. Mayeur-Rousse (Strasbourg), B. Perez (Le Mans), C. Rapatel (Clermont-Ferrand), S. Wuillemme (Nantes), M. Zandecki (Angers).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol* 2005 ; **11** : 83-90.
- (2) Galloway MJ, Osgerby JC. An audit of the indications for the reporting of blood films: results from the National Pathology Benchmarking Study. *J Clin Pathol* 2006 ; **59** : 479-81.
- (3) Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med* 2005 ; **353** : 498-507.
- (4) Gulati G, Song J, Florea AD, Gong J. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med* 2013 ; **33** : 1-7.
- (5) Peterson P, Blomberg D, Rabinovitch A, Cornbleet P. Physician review of the peripheral blood review: when and why. *Lab Hematol* 2001 ; **7** : 175-9.
- (6) Woo HY, Shin SY, Park H, Kim YJ, Kim HJ, Lee YK, Chae SL, Chang YH, Choi JR, Han K, Cho SR, Kwon KC. Current status and proposal of a guideline for manual slide review of automated complete blood cell count and white blood cell differential. *Korean J Lab Med* 2010 ; **30** : 559-66.
- (7) Bain BJ. The peripheral blood smear. Cecil Medicine, 24th edition. Philadelphia : *Saunders Elsevier* ; 2011 : chap. 160.
- (8) Troussard X, Vol S, Cornet E, Bardet V, Couaillac JP, Fossat C, Luce JC, Maldonado E, Siguret V, Tichet J, Lantieri O, Corberand J, for the French-Speaking Cellular Hematology Group (Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire, GFHC). Full blood count normal reference values for adults in France. *J Clin Pathol* 2013 Oct 29 (sous presse).
- (9) Bates I, Lewis SM. Reference ranges and normal values, Dacie and Lewis Practical Haematology, eleventh edition. Edinburgh : *Churchill Livingstone Elsevier* ; 2012 : p. 11.
- (10) Simpkin PS, Hinchliffe RF. Reference values. Pediatric Hematology, third edition. Oxford : *Blackwell Publishing* ; 2006 : p. 792.
- (11) Skubitz KM. Wintrobe's Clinical Hematology, twelfth edition, volume 1. Edited by Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B. Philadelphia : *Lippincott Williams & Wilkins* ; Normal Blood leukocyte concentration (95 % confidence limits) ; 2009 : p.186.
- (12) Brugnara C. Reference Values in Infancy and Childhood. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, seventh edition. Philadelphia : *Saunders Elsevier* ; 2009 : p. 1769.
- (13) Herklotz R, Lüthi U, Ottiger C, Huber AR. Meta-analysis of reference values in hematology. *Ther Umsch* 2006 ; **63** : 5-24.
- (14) Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES). Lecture critique de l'hémogramme: valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques. Paris : *Service des Références Médicales* ; 1997 ; <http://has.sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Hemogram.pdf>
- (15) COFRAC. Guide technique d'accréditation en biologie médicale. Document SH GTA 01. Paris : COFRAC ; 2011 ; <http://www.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-01>
- (16) Trimoreau F, Gachard N, Leymarie V, Frébet E, Perroud P, Feuillard J. Étapes préanalytiques pour la numération et cytogénologie sanguine. EMC-Biologie médicale. Paris : *Elsevier Masson* ; 2011 : p. 1-10.
- (17) Buttarello M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clin Chim Acta* 2004 ; **346** : 45-54.
- (18) Bain BJ. Blood cells: a practical guide, 4th edition Oxford : *Wiley-Blackwell* ; 2006.
- (19) Lesesve JF, Asnafi V, Braun F, Zini G. Fragmented red blood cells automated measurement is a useful parameter to exclude schistocytes on the blood film. *Int J Lab Hematol* 2012 ; **34** : 566-76.
- (20) Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, Erber W, Jou JM, Lee SH, McFadden S, Vives-Corrons JL, Yutaka N, Lesesve JF. International Council for Standardization in Haematology (ICSH). ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol* 2012 ; **34** : 107-16.
- (21) Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol* 2007 ; **29** : 4-20.
- (22) Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *Int J Lab Hematol* 2007 ; **29** : 21-41.
- (23) Houwen B. Random errors in haematology tests: a process control approach. *Clin Lab Haem* 1989 ; **12** : 157-70.
- (24) Latger-Cannard V, Hoarau M, Salignac S, Baumgart D, Nurden P, Lecompte T. Mean platelet volume: comparison of three analysers towards standardization of platelet morphological phenotype. *Int J Lab Hematol* 2012 ; **34** : 300-10.
- (25) Lévy JP, Varet B, Clauvel JP, Lefrère F, Bezeaud A, Guillin MC. Hématologie et transfusion, 2^{ème} édition. Paris : *Elsevier Masson* ; 2008 : p. 127.
- (26) Lesesve JF, Haristoy X, Lecompte T. EDTA-dependent leukoagglutination. *Clin Lab Haem* 2002 ; **24** : 67-9.
- (27) Rümke C. The statistically expected variability in differential leukocyte counting. Differential leukocyte countings. Sokie, Illinois: *College of American Pathologists* ; 1979 : p. 39-45.
- (28) Genevieve F, Godon A, Marteau-Tessier A, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire Partie 2. Numération et formule leucocytaires. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012 ; **70** : 141-54.
- (29) Kahn JE, Legrand F, Capron M, Prin L. Hyperéosinophilies et syndromes hyperéosinophiliques. EMC-Hématologie. Paris : *Elsevier Masson* ; 2011 : p. 1-16.
- (30) Lesesve JF, Benbih M, Lecompte T. Accurate basophils counting: not an easy goal! *Clin Lab Haem* 2005 ; **27** : 143-4.
- (31) Lesesve JF, Haristoy X, Fischer B, Goupil JJ, Lecompte T. Agglutination *in vitro* EDTA-dépendante des lymphocytes. *Ann Biol Clin (Paris)* 2001 ; **59** : 497-501.