



ETUDE DES ANOMALIES CYTOLOGIQUES DES GLOBULES BLANCS AU LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE DU CNHU-HKM DE COTONOU

ZOHOUN A^{1,2,3}, BAGLO-AGBODANDE T^{1,2,3}, ZOHOUN S¹, MASSI
R², HOUSSOU B², OROU GUIWA C², DEHOUMON J^{1,2}, MEHOU J²,
ANANI L^{1,3}, KINDE-GAZARD D^{1,3}

¹ Laboratoire d'Hématologie - CNHU-HKM – Cotonou

² Clinique Universitaire des Maladies du Sang – CNHU-HKM - Cotonou

³ Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou – Université d'Abomey
Calavi

Auteur correspondant : Dr ZOHOUN Alban ; 02 BP 2325 Cotonou
comlanz@yahoo.fr

RESUME

Introduction : l'hémogramme est un examen de routine en exploration hématologique. Il comprend une étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang. L'étude de la lignée leucocytaire concerne non seulement la numération différentielle des globules blancs mais aussi l'aspect morphologique des différentes cellules.

Objectif : la présente étude vise à décrire les anomalies qualitatives et quantitatives leucocytaires du sang périphérique au Laboratoire d'Hématologie du CNHU- HKM de Cotonou (Bénin).

Méthodologie : Il s'agissait d'une étude prospective transversale, à visée descriptive et analytique qui s'est déroulée du 02 mars au 30 avril 2020. Elle a porté sur 1031 échantillons non redondants prélevés sur tube EDTA. L'hémogramme a été réalisé grâce à l'automate d'hématologie XT2000i suivi de l'étude du frottis sanguin pour l'identification des anomalies leucocytaires.

Résultats : la majorité des patients (79,5%) avaient un nombre de globules blancs normal. Les anomalies quantitatives recensées étaient essentiellement à type de leucopénie (12%) et d'hyperleucocytose (8,5%). Trente-quatre (34) échantillons avec des anomalies qualitatives ont été dénombrés soit une fréquence de 3,3%. Les principales anomalies



qualitatives identifiées étaient représentées par des blastes (3/34), des promyélocytes (4/34), des myélocytes (5/34), des métamyélocytes (2/34), des métamyélocytes géants (1/34), des lymphocytes hyperbasophiles (2/34), des hyposegmentations (5/34), des hypersegmentations (4/34), des hypogranulations (5/34), des dégranulations (1/34) et des caryoschizes (2/34). Dans chaque cas, la mise en évidence de ces anomalies qualitatives avait orienté et avait permis de retrouver l'étiologie en cause.

Conclusion : notre travail a mis en exergue l'importance de l'étude du frottis sanguin devant toute anomalie quantitative et qualitative de l'hémogramme automatisé avant l'étape de validation.

Mots clés : hémogramme - anomalies qualitatives – numération leucocytaire – Bénin

ABSTRACT

STUDY OF CYTOLOGICAL ABNORMALITIES OF WHITE BLOOD CELLS IN THE HEMATOLOGY LABORATORY OF THE CNHU-HKM OF COTONOU

Introduction: the complete blood count is a routine blood test. It includes a quantitative and qualitative study of the blood elements. The study of the leukocyte line concerns not only the differential count of white blood cells but also the cyto-morphological aspect of the different cells.

Objective: the present study aims to describe qualitative and quantitative leukocyte abnormalities of peripheral blood at the Hematology Laboratory of CNHU-HKM in Cotonou (Benin).

Method: this was a cross-sectional, descriptive and analytical study that took place from March 2 to April 30, 2020. It involved 1031 non-redundant samples taken from an EDTA tube. The blood count was performed using the XT2000i hematology machine followed by the study of the blood smear for the identification of leukocyte abnormalities.

Results: The majority of patients (79.50%) had normal white blood cell counts. The quantitative abnormalities identified were mainly leukopenia (12%) and hyperleukocytosis (8.50%). Thirty-four (34) samples with qualitative abnormalities were counted, ie a frequency of 3.3%. The main qualitative abnormalities identified were represented by blasts (3/34), promyelocytes (4/34), myelocytes (5/34), metamyelocytes (2/34), giant metamyelocytes (1/34), hyperbasophilic lymphocytes (2/34),



hyposegmentations (5/34), hypersegmentations (4/34), hypogranulations (5/34), degranulations (1/34) and caryoschizes (2/34). In each case, demonstration of these qualitative abnormalities had guided and allowed to find the etiology in cause.

Conclusion: our work highlighted the importance of the study of the blood smear before any quantitative and qualitative abnormality of the automated blood count before the validation stage.

Key words: blood count - qualitative abnormalities - white blood cell count - Benin

INTRODUCTION

L'hémogramme est un examen de routine en exploration hématologique et l'un des examens les plus demandés en Biologie Médicale. Il comprend une étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang [1-2]. L'étude qualitative est obligatoire et systématique devant toute anomalie quantitative ou alarme de l'automate. Elle est réalisée à partir d'un frottis sanguin et comporte l'étude morphologique des globules rouges, des plaquettes et des globules blancs de même que l'établissement de la différentielle leucocytaire [3]. L'interprétation des résultats de l'hémogramme requiert rigueur et méthode et doit s'intéresser à toutes les lignées cellulaires sanguines [3-4].

En ce qui concerne la lignée leucocytaire, le cytologiste doit étudier non seulement la numération différentielle des globules blancs mais aussi l'aspect morphologique des différentes cellules [5]. Des variations cytologiques très diverses peuvent être d'ordre physiologique ou pathologique. Parmi les atypies cellulaires pathologiques, on distingue les anomalies nucléaires et cytoplasmiques (granulations, vacuoles, inclusions) souvent évocatrices de différentes pathologies [5]. Le présent travail avait pour objectif de décrire les anomalies quantitatives et qualitatives leucocytaires du sang périphérique au Laboratoire d'hématologie du CNHU- HKM de Cotonou et de rappeler l'intérêt de l'étude systématique du frottis devant toute anomalie.



1. METHODOLOGIE

Il s'agit d'une étude transversale à visée descriptive qui a été menée au Laboratoire d'hématologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA (CNHU- HKM) de Cotonou de mars à avril 2020. Les données socio-démographiques et clinico-biologiques des patients ont été recueillies à l'aide de fiches préétablies et testées pour l'étude.

Le sang avait été recueilli sur tubes éthylène diamine tétra-acétique tripotassique (EDTA) et acheminé dans les 2 heures après le prélèvement au laboratoire d'hématologie. L'hémogramme avait été réalisé grâce à l'automate d'hématologie cellulaire de type Sysmex XT 2000i. Il s'agit d'un analyseur dont le principe est basé sur le système d'hydro-focalisation et de la cytométrie en flux. Différentes méthodes sont utilisées pour les différents paramètres de l'hémogramme, tels que la spectrophotométrie pour le dosage de l'hémoglobine ; l'impédancemétrie pour la numération des hématies, des leucocytes et des plaquettes ainsi que la fluorocytométrie pour la formule leucocytaire, la numération des réticulocytes et des érythroblastes. Les différents paramètres de l'hémogramme qui ont été déterminés étaient : le taux d'hémoglobine (Hb), l'hématocrite , le volume globulaire moyen , la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine , la teneur corpusculaire moyenne en Hb , le nombre de plaquettes , le nombre de leucocytes et la formule leucocytaire permettant d'identifier le nombre de polynucléaires neutrophiles (PNN), de lymphocytes , de polynucléaires éosinophiles , de polynucléaires basophiles et le nombre de monocytes . Les contrôles de qualité interne de l'hémogramme réalisés chaque matin ainsi que les résultats des patients sont systématiquement validés par un médecin biologiste. Un contrôle de qualité de la formule leucocytaire avait été réalisé sous forme d'une revue microscopique avec décompte des différentes populations cellulaires par deux techniciens habilités à la lecture de frottis sanguins, après fixation coloration au May-Grünwald Giemsa. La validation biologique a toujours été effectuée par un médecin biologiste, praticien hospitalier du laboratoire. Nous avons inclus de façon exhaustive tous les hémogrammes reçus au laboratoire durant la période d'étude. Ont été exclus les échantillons non conformes (échantillons



hémolysés, échantillons avec coagulum, ...) et ceux de patients sous chimiothérapie.

Les données collectées avaient été saisies dans le logiciel Excel 2010 et leur analyse avait été réalisée avec le logiciel Epi info version 3.4.3. Les moyennes de chaque paramètre ont été présentées avec les écarts-types en considérant un intervalle de confiance de 95%.

2. RESULTATS

Durant la période d'étude, 1031 échantillons non redondants de sang veineux prélevés pour l'hémogramme ont été analysés. Ces échantillons correspondaient à 541 femmes (52,5%) et 490 hommes (47,5%) soit un sex-ratio H/F de 0,9. Les adultes représentaient 90,6% des prélèvements effectués et l'âge moyen de notre échantillon était de 46,2 ans. La majorité des échantillons analysés avaient été prélevés chez des patients ambulatoires à la salle de prélèvement de l'hôpital à 51,79%. Quant aux prélèvements issus de patients hospitalisés, ils provenaient essentiellement de la dialyse (13,29%) et de l'hématologie clinique (5,43%) (Tableau I).

Tableau I : répartition des échantillons sanguins suivant leur provenance

Provenance	N	%
Externe	534	51,79
Dialyse	137	13,29
Hématologie clinique	56	5,43
Pédiatrie	24	2,33
Gynécologie-Obstétrique	23	2,23
Néonatalogie	20	1,94
Autres services	237	22,99
TOTAL	1031	100

La répartition des échantillons en fonction des motifs de demande est représentée par le tableau II. Le bilan systématique constituait le principal motif de demande de l'hémogramme avec 670 cas sur 1031 (64,99%), suivi par les bilans de contrôle et les bilans pré-opératoires avec respectivement 8,44% et 4,66%.



Tableau II : répartition des échantillons en fonction des motifs de demande

Diagnostic	N	%
Bilan systématique	670	64,99
Bilan de contrôle	87	8,44
Bilan préopératoire	48	4,66
Bilan AVC/HTA	26	2,52
Bilan infectieux et inflammatoire	32	3,10
Anémie + CVO	24	2,33
Bilan préchimiothérapie	11	1,07
Bilan rénal	10	0,97
Bilan thérapeutique	10	0,97
Eclampsie	3	0,29
Autres	110	10,67
TOTAL	1031	100

AVC : accident vasculaire cérébral ; HTA : hypertension artérielle ; CVO : crise vaso-occlusive

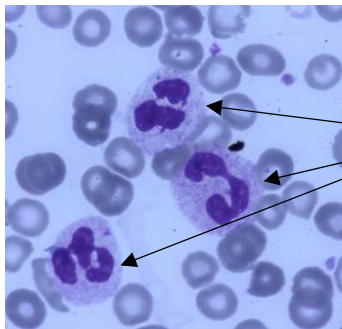
En ce qui concerne les anomalies qualitatives leucocytaires, elles ont concerné 34 échantillons soit une fréquence de 3,3%. Trois types d'anomalies qualitatives ont été observés. Elles étaient réparties en anomalies morphologiques (16/34), nucléaires (11/34) et cytoplasmiques (7/34) et sont décrites dans le tableau III. Les images 1 à 4 représentent les principales anomalies nucléaires et cytoplasmiques rencontrées dans notre étude. La mise en évidence de ces anomalies a permis de suspecter et de confirmer une mégaloblastose médullaire dans 4 cas ; un syndrome myélodysplasique dans 16 cas, une néoplasie myéloproliférative dans 5 cas et une leucémie aiguë dans 3 cas.

Tableau III : répartition des anomalies qualitatives des globules blancs

Anomalies	Description	N	%
Anomalies morphologiques	Blastes	3	16 (47,1%)
	Promyélocytes	4	
	Myélocytes	5	
	Métamyélocytes	2	
	Lymphocytes activés	2	

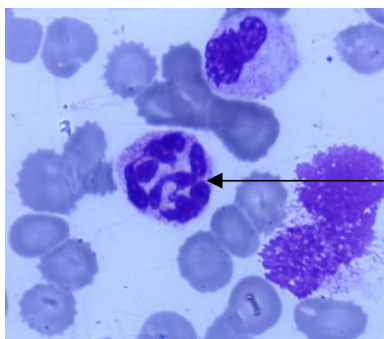


Anomalies nucléaires	Hyposegmentation	5	11 (32,4%)
	Hypersegmentation	4	
	Caryoschizes	2	
Anomalies cytoplasmiques	Hypogranulation	5	7 (20,5%)
	Dégranulation	2	



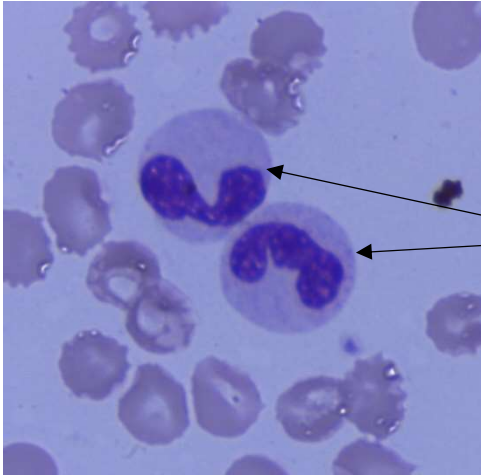
Polynucléaires
neutrophiles
hyposegmentés

Image 1 : polynucléaires neutrophiles hyposegmentés
(Source : Laboratoire d'hématologie – CNHU-HKM de Cotonou)



Polynucléaire
neutrophile
hypersegmenté

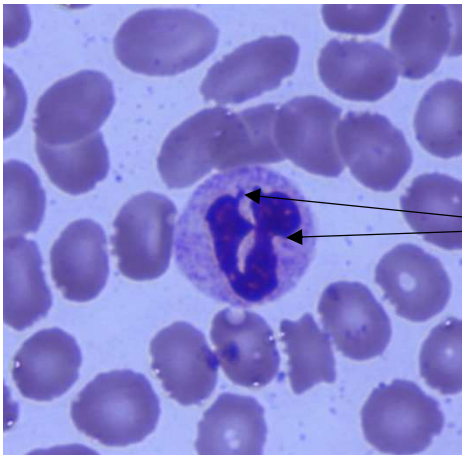
Image 2 : PNN hypersegmentés
(Source : Laboratoire d'hématologie – CNHU-HKM de Cotonou)



Polynucléaires
neutrophiles
dégranulés

Image 3 : polynucléaires neutrophiles dégranulés

(Source : Laboratoire d'hématologie – CNHU-HKM de Cotonou)



Caryoschizes

Image 4 : caryoschizes

(Source : Laboratoire d'hématologie – CNHU-HKM de Cotonou)



En ce qui concerne la numération leucocytaire et les anomalies quantitatives, 819 patients (79,50%) avaient présenté un nombre normal de globules blancs. Les leucopénies et les hyperleucocytoses étaient retrouvées respectivement à 12% et 8,5%. L'hyperleucocytose a concerné principalement les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes. Par ailleurs, il a été observé la présence des érythroblastes en excès sur 20 échantillons soit 1,9%. Ces derniers, lorsqu'ils dépassent une proportion de 10% impactent le nombre de leucocytes avec une augmentation artificielle. Dans ce cas, une correction du nombre de leucocytes a été effectuée.

3. DISCUSSION

Le présent travail a permis de rechercher et de décrire les anomalies leucocytaires qualitatives et quantitatives du sang périphérique au Laboratoire d'hématologie du CNHU-HKM. Les motifs de demande des hémogrammes étudiés étaient multiples et représentés essentiellement par un bilan systématique (64,99%) et un bilan de contrôle (8,44%). En Côte d'Ivoire, dans l'étude de Diakité et *al.*, les principaux motifs de demande étaient représentés par la fièvre au long cours (87,72%), l'anémie (78,95%) et l'infection urinaire (21,05%) [6].

Les anomalies qualitatives leucocytaires étaient représentées par les blastes, les promyélocytes, les myélocytes, les métamyélocytes, les lymphocytes hyperbasophiles et des anomalies des polynucléaires à type d'hyposegmentation, d'hypersegmentation, d'hypogranulation, de dégranulation et de caryoshizes. L'étude du frottis sanguin fait partie intégrante de l'hémogramme. Elle permet de mettre en évidence non seulement des erreurs et/ou des anomalies mais aussi de nombreuses situations pathologiques potentiellement graves. Dans notre étude, les anomalies qualitatives leucocytaires a permis de dépister et de faire confirmer plusieurs hémopathies malignes aiguës ou chroniques, des pathologies pré-leucémiques et mégaloblastiques. Nos résultats rappellent la nécessité de réaliser de façon systématique l'étude du frottis sanguin devant toute anomalie leucocytaire quantitative ou une alarme de l'automate. Il faut noter que cette attention au frottis doit être dirigée vers toutes les lignées cellulaires [7-10].



La présence d'une blastose périphérique constitue une urgence vitale mettant en jeu le pronostic vital. Elle impose la réalisation d'examen cytologique et cytochimique complémentaires notamment le myélogramme pour le diagnostic positif des leucémies aiguës. La myélémie peut également correspondre à des pathologies sévères notamment les néoplasies myéloprolifératives. Le personnel biotechnologiste doit être formé et entraîné à reconnaître ces cellules immatures et les signaler [11-12].

Les polynucléaires, hypo ou hypersegmentés, hypo ou dégranulés et les caryoschizes, tels que retrouvés dans notre étude peuvent relever de multiples étiologies de dysmyélopoïèse (syndrome myélodysplasique, mégablastose médullaire, cause médicamenteuse et toxique) [13-15]. La présence de ces anomalies seules ou associées peut être le signe d'un fonctionnement anormal de la moelle osseuse. Le myélogramme est encore ici indispensable comme analyse complémentaire pour mieux asseoir le diagnostic. Ainsi dans notre étude, l'association d'une moelle riche, d'aspect « bleu » avec des anomalies dysplasiques multilignées dont les signes de dysgranulopoïèse à type d'hypersegmentation, de métamyélocytes géants a orienté le diagnostic d'une mégablastose médullaire qui a été confirmé par le dosage de la vitamine B12. De même, le diagnostic de syndrome myélodysplasique (SMD) a été orienté et confirmé devant des signes de dysplasie multilignée dont les signes de dysgranulopoïèse (hypersegmentation, hyposegmentation, hypogranulation, dégranulation, mauvaise répartition des granulations, caryoschizes).

Le Laboratoire d'hématologie et le Service d'hématologie clinique du CNHU-HKM de Cotonou constituent les seuls centres offrant une prise en charge spécialisée en Hématologie. Le laboratoire d'analyses biomédicales est donc en première ligne pour dépister ces anomalies et donner l'alerte pour une référence précoce en milieu spécialisé.

L'étude de la numération leucocytaire a révélé que la majorité des patients inclus dans l'étude avaient un nombre de globules blancs normal (79,5%). En ce qui concerne les anomalies quantitatives retrouvées, les leucopénies étaient prédominantes (12%) suivies des hyperleucocytoses (8,5%). Définie par une valeur supérieure à 8 G/L, la leucocytose peut indiquer une



activation du système immunitaire en réponse à une infection, une inflammation, une nécrose ou encore une affection maligne. Cette élévation du nombre de leucocytes peut être liée à plusieurs facteurs tels que la grossesse, le tabagisme et l'effort physique [11].

La numération des neutrophiles détermine le risque d'infection puisqu'ils sont les « premiers intervenants » au site d'une inflammation après un contact infectieux. Une neutropénie définie par un nombre de polynucléaires neutrophiles en deçà de 1,5 G/L peut être d'origine bactérienne, parasitaire, virale (grippe, zona, hépatite, mononucléose infectieuse, sida, etc.) ou médicamenteuse. La neutropénie peut encore survenir après une chimiothérapie, au cours de certaines hémopathies malignes (myélome, lymphome, leucémie) et dans les aplasies. Le risque infectieux devient important en dessous de 0,5 G/L correspondant à l'agranulocytose. Il s'agit d'une urgence médicale nécessitant une hospitalisation immédiate surtout lorsqu'elle est associée à une fièvre [11].

CONCLUSION

L'étude de la numération leucocytaire du sang périphérique au Laboratoire d'hématologie du Centre National Hospitalier Universitaire – Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou a montré des anomalies quantitatives révélées par l'automate d'hémogramme et qualitatives observées sur les frottis sanguins colorées au May Grünwald Giemsa.

Si l'automatisation a amélioré considérablement la qualité des hémogrammes, les étapes de validation technique et biologique demeurent essentielles et recourent souvent aux techniques manuelles dont l'étude des frottis de sang. Face à des anomalies quantitatives et qualitatives notamment leucocytaires, une démarche logique associée à une étude minutieuse des frottis sanguins permet dans la majorité des cas de diagnostiquer diverses pathologies ou d'orienter vers d'autres explorations diagnostiques.

Au vu de tout ce qui précède, il est important de mettre l'accent sur la lecture attentive et systématique des frottis sanguins. Le biotechnologiste a l'obligation de relever et de signaler tous les détails éventuels observés lors



de la lecture des frottis dans le but d'aider le clinicien dans la prise en charge du patient.

REFERENCES

- 1) Troussard X, Vol S, Cornet E, Bardet V, Couaillac JP, Fossat C, Luce JC, Maldonado E, Siguret V, Tichet J, Lantieri O, Corberand J. Étude des valeurs normales de l'hémogramme chez l'adulte : un besoin pour une meilleure interprétation et pour l'accréditation du laboratoire. *Ann Biol Clin* 2014 ; 72(5) : 561-81.
- 2) Berthélémy S. L'hémogramme ou numération-formule sanguine. *Actual Pharm.* 2014 ; 53(538) : 53-5.
- 3) ANAES. Lecture critique de l'hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques. Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé ; 1997.
- 4) Fenneteau O, Hurtaud-Roux M-F, Schlegel N. Aspect cytologique normal et pathologique du sang chez le nouveau-né et le jeune enfant. *Ann Biol Clin.* 2006 ; 64(1) : 17-36.
- 5) Geneviève F, Godon A, Tessier-Marteau 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* 2012 ; 70(2) : 141-54.
- 6) Diakite M, Kone A, Kante AS, Sangare M, Traore C, Adjambri AS. Anomalies quantitatives et morphologiques de l'hémogramme chez les clients reçus à l'Unité de CDV du laboratoire central du CHU de Yopougon. *Mali Méd.* 2017 ; 32(3) : 28-33.
- 7) Cloutier L, Rene A, Jutras A. La formule sanguine complète. *Prat Clin.* 2014 ; 11(1) : 28-32.
- 8) Geneviève F, Galois AC, Mercier-Bataille D, Wagner-Ballon O, Trimoreau F, Fenneteau O, Schillinger F, Leymarie V, Girard S, Settegrana C, Daliphard S, Soenen-Cornu V, Cividin M, Lesesve JF, Châtelain B, Troussard X, Bardet V. Revue microscopique du frottis sanguin : propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Revue microscopique du frottis sanguin : propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). Feuilletts de Biologie* 2014 ; 15(317) : 7-16.



- 9) Tessier-Marteau A, Geneviève F, Godon A, Macchi L, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. Partie 1. Les plaquettes sanguines. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68(4) : 393-407.
- 10) Godon A, Genevieve F, Marteau-Tessier A, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire Partie 3. Hémoglobine, hématies, indices érythrocytaires, réticulocytes. *Ann Biol Clin* 2012 ; 70(2) : 155-68.
- 11) Bron D. Approche rationnelle d'une hyperleucocytose. *Rev Med Brux* 2013 ; 34 : 339-42
- 12) Laplume S, Marquis S, Gaillard K, Armand-Perroux A, Roupie E. Myélémies à la numération formule sanguine (NFS) et sepsis aux urgences : étude préliminaire. *JEUR* 2007 ; 20(1) : pp 185.
- 13) Flanagan B, Keber B, Mumford J, Lam L. Hematologic Conditions: Leukocytosis and Leukemia. *FP Essent.* 2019 ; 485 : 17-23.
- 14) Bennett M. Megaloblastic Anaemia. *JR Coll Physicians Edinb.* 2020 ; 50(4) : 456-461
- 15) Boiteux-Jurain M, Daguindau E, Nerich V. Syndromes myélodysplasiques et leucémies aiguës. *Pharma Clin Prat Oncol.* 2020 : 270-278.