



HÉMATOLOGIE

RÈGLES NORMATIVES

HÉMATOLOGIE
- RÈGLES NORMATIVES -

Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec
281, avenue Laurier Est, Montréal (Québec) H2T 1G2
Tél. : 514 527-9811 – 800 567-7763 Téléc. : 514 527-7314
Courriel : optmq@qc.aira.com Internet : www.optmq.org

Dépôt légal 2^e trimestre 2001

Reproduction permise avec avis à l'O.P.T.M.Q. et mention de la source

AVANT-PROPOS

Le présent document est une première parution des règles normatives en hématologie. Il a pour but de colliger les renseignements disponibles à ce jour, afin de renforcer les critères de qualité et de sécurité reliés aux analyses d'hématologie. Ces règles ont été élaborées à partir de références documentées et d'opinions de spécialistes dans le domaine.

Ces règles ne se prétendent pas exhaustives et peuvent être enrichies afin de répondre aux exigences de chaque laboratoire. Compte tenu de l'évolution technologique, elles feront l'objet de révisions et toute suggestion susceptible d'améliorer le contenu sera accueillie avec intérêt.

Nous tenons à remercier particulièrement les technologistes médicaux qui ont collaboré à la révision scientifique de ces règles normatives : M^{me} Clémence Bastien, M^{me} Suzanne Brousseau, M. Serge Comtois, M^{me} Christiane L. Di Biasio, M^{me} Paule Côté, M^{me} Hélène Lord Dubé, M^{me} Sandra Gagnon, M^{me} Claudette Girard, M^{me} Guylaine Lafrance, M^{me} Lorraine Andrée Parent, M^{me} Diane Jarry Savard, M^{me} Claudette Tremblay et M^{me} Régina Zver, ainsi que les personnes suivantes : M. John d'Angelo, M^{me} Suzanne Bourassa et M^{me} Evelyne Kokoskin.

Nous remercions aussi sincèrement toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de cette publication.

Comité des normes de la pratique :

Suzanne Deschênes Dion, T.M., présidente

Mance Bérard, T.M.

Shirley Callaghan, T.M.

M.-Debbie Provencher, T.M.

Danielle Cousineau, T.M., chargée de dossiers scientifiques

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	III
1.0 INTRODUCTION.....	1
2.0 DÉFINITIONS.....	1
3.0 MESURES DE SÉCURITÉ.....	2
4.0 RESSOURCES HUMAINES.....	3
5.0 MATÉRIEL DIDACTIQUE ET DE RÉFÉRENCE EN HÉMATOLOGIE	4
6.0 PRÉLÈVEMENT ET ACHEMINEMENT DES ÉCHANTILLONS.....	4
6.1 RÉPERTOIRE DES ANALYSES	4
6.2 ANTICOAGULANTS POUR ÉCHANTILLONS HÉMATOLOGIQUES.....	4
6.2.1 EDTA.....	5
6.2.2 Citrate de sodium.....	5
6.2.3 Héparine.....	5
6.3 RATIO SANG/ANTICOAGULANT.....	6
6.4 IDENTIFICATION DE L'ÉCHANTILLON.....	6
6.5 TRANSPORT ET DÉLAIS DE CONSERVATION.....	6
6.6 CONDITIONS PRÉANALYTIQUES RELATIVES À L'ANALYSE DE LA FSC.....	7
6.6.1 Prélèvements veineux pour la formule sanguine	7
6.6.1.1 Délais de conservation des spécimens veineux avec EDTA.....	7
6.6.2 Prélèvements capillaires pour la formule sanguine	8
6.6.2.1 Délais de conservation des spécimens capillaires	8
7.0 RÉCEPTION ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	8
7.1 CONFORMITÉ DU PRÉLÈVEMENT ET CRITÈRES DE REJET	8
7.2 REGISTRE D'ÉCHANTILLONS	9
7.3 ENVOI D'ANALYSES À D'AUTRES LABORATOIRES.....	9
8.0 MANUELS DE LABORATOIRE	10
8.1 MANUEL DES POLITIQUES ET DES DIRECTIVES	10
8.1.1 Politiques et directives générales.....	10
8.1.2 Procédures en cas de panne de courant.....	11
8.1.3 Procédures en cas de panne informatique.....	11
8.2 MANUEL DES TECHNIQUES ET DES PROCÉDURES.....	11
8.3 MANUEL DES PROCÉDURES D'UTILISATION DES APPAREILS.....	12
8.4 MANUEL DES PROCÉDURES DU SYSTÈME INFORMATIQUE.....	13
8.5 RÉVISION ANNUELLE	13
8.6 REGISTRE DES INCIDENTS ET DES MESURES CORRECTRICES.....	13
8.7 REGISTRE DES ACTIONS POSÉES ET DES CHANGEMENTS.....	13
9.0 POLITIQUES GÉNÉRALES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ	14
9.1 APPLICATION GÉNÉRALE DU CONTRÔLE DE QUALITÉ.....	14
9.2 ANALYSES SANS MATÉRIEL COMMERCIAL DE CONTRÔLE	14
9.3 CONTRÔLE DE QUALITÉ EXTERNE	15
9.4 POLITIQUES RELATIVES À LA NON CONFORMITÉ.....	15
10.0 RÉACTIFS.....	15

11.0 INSTRUMENTATION.....	16
11.1 CONNAISSANCES DE L'INSTRUMENTATION.....	16
11.2 MANUEL DES PROCÉDURES D'UTILISATION DES APPAREILS.....	16
11.3 RÉFRIGÉRATEUR, CONGÉLATEUR, BAIN-MARIE ET ÉTUVE.....	16
11.4 CENTRIFUGEUSE ET CYTOCENTRIFUGEUSE.....	16
11.5 MICROSCOPE.....	16
11.5.1 Ajustement de l'éclairage de Köhler.....	17
11.6 PIPETTES AUTOMATIQUES ET DILUTEURS.....	17
12.0 CONTRÔLE DE QUALITÉ DES ANALYSEURS CELLULAIRES.....	17
12.1 PRINCIPES DE MESURE.....	18
12.2 CALIBRAGE.....	18
12.2.1 Solutions de calibrage.....	18
12.2.2 Procédure de calibrage.....	19
12.2.2.1 Vérification du calibrage.....	19
12.2.3 Fréquences de calibrage.....	19
12.3 UTILISATION DES SOLUTIONS COMMERCIALES DE CONTRÔLE.....	19
12.3.1 Caractéristiques des solutions commerciales de contrôle.....	20
12.3.2 Vérification d'un nouveau lot de solutions de contrôle.....	20
12.3.3 Validation des valeurs cibles du nouveau lot de solutions de contrôle.....	20
12.3.3.1 Valeurs cibles conformes aux valeurs attendues.....	21
12.3.3.2 Valeurs cibles hors limites.....	21
12.3.4 Fréquence d'utilisation des solutions commerciales de contrôle.....	21
12.3.5 Évaluation des résultats des solutions commerciales de contrôle.....	22
12.4 CONTRÔLE DE REPRODUCTIBILITÉ JOURNALIER AVEC UN ÉCHANTILLON CLIENT.....	22
12.4.1 Évaluation des résultats.....	23
12.5 CONTRÔLE DE QUALITÉ EN UTILISANT LES RÉSULTATS DES CLIENTS.....	23
12.5.1 Algorithme de Bull ou moyenne flottante pondérée ou X_B	23
12.5.2 Règle de trois.....	24
12.6 DÉTECTION D'ERREUR ALÉATOIRE À L'AIDE DU « DELTA CHECK ».....	24
12.7 CORRÉLATION ENTRE L'APPAREIL PRINCIPAL ET L'APPAREIL DE SOUTIEN.....	25
12.8 POLITIQUES RELATIVES AUX INTERVENTIONS SELON LES SIGNAUX D'ALARME ET LES MESSAGES D'ERREUR.....	25
12.9 SOURCES POSSIBLES D'ERREURS ANALYTIQUES.....	26
13.0 FROTTIS SANGUIN PÉRIPHÉRIQUE.....	26
13.1 IDENTIFICATION DU FROTTIS SANGUIN.....	26
13.2 DÉLAIS POUR CONFECTIONNER UN FROTTIS.....	27
13.3 CONFECTION DU FROTTIS SANGUIN.....	27
13.4 COLORATION DE BASE.....	27
13.4.1 Colorants.....	28
13.4.2 Technique et procédure.....	28
13.4.3 Critères de qualité de la coloration.....	28
13.5 EXACTITUDE ET UNIFORMITÉ DE L'EXAMEN DU FROTTIS SANGUIN.....	28
13.5.1 Méthode d'examen du frottis sanguin.....	28
13.5.1.1 Examen macroscopique.....	28
13.5.1.2 Examen microscopique à faible grossissement.....	29
13.5.1.3 Examen microscopique à fort grossissement.....	29
13.5.2 Standardisation de l'appréciation de la morphologie cellulaire.....	29
13.5.2.1 Lecture et identification.....	29
13.5.2.2 Charte de nomenclature et de quantification.....	29
13.5.3 Méthodes d'estimation des numérations globulaires.....	29

13.5.4	Correction de la numération des leucocytes en présence d'érythroblastes	30
13.5.5	Correction des autres sources d'interférences avec les paramètres hématologiques	30
13.5.6	Artéfacts du frottis sanguin périphérique.....	30
13.5.7	Cellules éclatées.....	31
13.6	RÉDACTION DU RAPPORT DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE.....	31
13.7	POLITIQUES D'ENVOI DES FROTTIS SANGUINS À L'HÉMATOLOGUE	31
13.8	RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES PARASITES SANGUINS.....	32
13.8.1	Considérations spécifiques à la recherche de parasites.....	32
13.8.1.1	Prélèvement et délais de conservation pour la recherche de parasites	32
13.8.1.2	Préparation des frottis.....	33
13.8.1.3	Colorations	33
13.8.1.4	Examen microscopique.....	33
13.8.1.5	Taux de parasitémie.....	34
13.8.2	Contrôle de qualité pour les parasites	34
13.9	PARTICIPATION À UN CONTRÔLE EXTERNE DE LA QUALITÉ	34
13.10	DÉLAI DE CONSERVATION DES FROTTIS SANGUINS.....	35
13.11	FORMATION CONTINUE.....	35
14.0	RÉTICULOCYTES.....	35
14.1	DÉFINITION DU RÉTICULOCYTE.....	35
14.2	PRÉLÈVEMENT REQUIS	35
14.3	DÉLAIS DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS POUR LA NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES	35
14.4	MÉTHODE MANUELLE DE NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES.....	36
14.4.1	Coloration	36
14.4.2	Étalement du frottis.....	37
14.4.3	Examen microscopique.....	37
14.4.3.1	Artéfacts.....	37
14.4.3.2	Interférences avec d'autres inclusions cellulaires.....	37
14.5	MÉTHODES AUTOMATISÉES DE NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES.....	38
14.5.1	Coloration	38
14.5.2	Contrôle de qualité des appareils de mesure.....	38
14.5.3	Interférences	39
14.6	VALEURS DE RÉFÉRENCE	39
15.0	VITESSE DE SÉDIMENTATION DES ÉRYTHROCYTES	40
15.1	PRINCIPE DE LA MÉTHODE	40
15.2	SPÉCIMEN REQUIS POUR LA VITESSE DE SÉDIMENTATION	40
15.3	DÉLAIS DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS POUR LA SÉDIMENTATION	41
15.4	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	41
15.4.1	Contrôle avec solutions commerciales	41
15.4.2	Contrôle des éléments de variabilité.....	41
15.4.2.1	Facteurs reliés à l'échantillon sanguin	41
15.4.2.2	Facteurs environnementaux	42
15.4.2.3	Facteurs techniques	42
15.4.3	Validation de l'exactitude des résultats	43
15.4.4	Validation de l'exactitude d'une nouvelle technique ou d'un changement dans l'équipement	43
15.5	VALEURS DE RÉFÉRENCE	43
15.6	SIGNIFICATION CLINIQUE.....	44

16.0 MOELLE OSSEUSE.....	44
16.1 MATÉRIEL NÉCESSAIRE AU PRÉLÈVEMENT DE MOELLE.....	44
16.2 TRAITEMENT DU PRÉLÈVEMENT AU CHEVET DU CLIENT.....	44
16.2.1 Biopsie de moelle osseuse	44
16.2.1.1 Confection des frottis - Empreintes.....	44
16.2.1.2 Traitement de l'échantillon de biopsie de moelle	45
16.2.2 Ponction de moelle osseuse	45
16.2.2.1 Traitement de l'échantillon de ponction.....	45
16.2.2.2 Étalement direct du liquide d'aspiration.....	45
16.2.2.3 Confection de frottis préparés à partir de particules écrasées.....	46
16.2.2.4 Autres analyses	46
16.3 TRAITEMENT DU SPÉCIMEN DE MOELLE OSSEUSE AU LABORATOIRE	46
16.4 MÉTHODE D'EXAMEN DES FROTTIS DE MOELLE OSSEUSE	46
16.4.1 Examen macroscopique	46
16.4.2 Examen microscopique à faible grossissement	47
16.4.3 Examen microscopique à l'immersion	47
16.5 RAPPORT PRÉLIMINAIRE DE L'EXAMEN DE LA MOELLE OSSEUSE	47
17.0 COLORATIONS CYTOCHIMIQUES	48
17.1 CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES	48
17.2 RÉACTIFS	48
17.3 LAMES TÉMOINS.....	48
17.4 INTERPRÉTATION ET RÉSULTATS	48
18.0 LIQUIDES BIOLOGIQUES	49
18.1 PRÉLÈVEMENT	49
18.1.1 Liquide céphalorachidien	49
18.1.2 Liquide synovial et liquide séreux	49
18.2 IDENTIFICATION DE L'ÉCHANTILLON.....	49
18.3 DÉLAIS DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE LIQUIDES BIOLOGIQUES.....	50
18.3.1 Liquide céphalorachidien	50
18.3.2 Autres liquides	50
18.4 CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES.....	50
18.4.1 Examen macroscopique du liquide	50
18.4.2 Numération des éléments cellulaires	50
18.4.3 Confection des frottis.....	51
18.4.4 Réactifs	51
18.4.5 Examen microscopique du frottis	51
18.4.6 Rédaction du rapport.....	51
18.5 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE L'EXAMEN DES LIQUIDES BIOLOGIQUES.....	51
18.6 SIGNIFICATION CLINIQUE.....	52
19.0 TRANSMISSION DES RÉSULTATS.....	52
19.1 VÉRIFICATION DE LA VALIDITÉ DU RÉSULTAT.....	52
19.1.1 Validation automatique.....	52
19.2 PROTOCOLE DES VALEURS PANIQUES	53
19.3 MODE DE TRANSMISSION DES RÉSULTATS.....	53
19.4 CONSERVATION DES RÉSULTATS	53
19.5 PROTOCOLE DE CORRECTION D'ERREURS SUR LES RAPPORTS	53

20.0 GESTION DE L'INFORMATION	54
20.1 MÉCANISME D'INFORMATION DU PERSONNEL	54
20.2 SYSTÈME INFORMATIQUE.....	54
20.3 CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DES DOSSIERS DE LABORATOIRE	54
ANNEXE 1 DISQUE DE MILLER.....	55
ANNEXE 2 ANALYSEURS - SOURCES D'ERREURS ANALYTIQUES	56
ANNEXE 3 SÉDIMENTATION - SIGNIFICATION CLINIQUE	58
ANNEXE 4 ALGORITHME DE BULL.....	59
ANNEXE 5 CONSERVATION DES DOCUMENTS, LAMES, ÉCHANTILLONS	60
ANNEXE 6 NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES - INTERFÉRENCES.....	62
ANNEXE 7 MICROSCOPE - AJUSTEMENT DE L'ÉCLAIRAGE DE KÖHLER.....	63
BIBLIOGRAPHIE.....	64
COMMENTAIRES.....	69

1.0 Introduction

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

Le souci de la qualité des services rendus est devenu une préoccupation internationale. En ce qui a trait à la gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale, le Comité Technique ISO/TC 212 de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) a produit des normes internationales dans le domaine des analyses biomédicales²⁵. Le *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*, organisme américain de réputation internationale, élabore des normes pour le maintien d'un système de qualité dans les laboratoires de biologie médicale⁶⁴.

En plus de cette orientation vers un système de qualité des laboratoires, les tendances futures de la profession, tant sur le plan de la formation que de la pratique, sont basées sur une approche de compétences. Cela implique l'affirmation, par le technologiste médical, de l'importance de son jugement et de son expertise dans la gestion de sa pratique.

Plusieurs éléments influencent la qualité des examens de laboratoire et ils font partie intégrante du programme d'assurance de la qualité.

L'assurance de la qualité comprend des activités systématiques pour suivre toutes les étapes d'une épreuve de laboratoire et implique donc la prise en considération, sans restriction, des éléments suivants : les ressources humaines, la gestion de la documentation, le choix des ressources matérielles (instruments, etc.), le processus analytique, le contrôle de la qualité, le mécanisme de transmission des résultats, la communication avec les clients, la conservation et l'archivage des documents.

C'est en tenant compte de tous ces éléments et en conformité avec les pratiques généralement reconnues en laboratoire, que nous abordons et décrivons ces règles normatives en hématologie.

2.0 Définitions

Assurance de la qualité :	Coordination de l'ensemble des activités continues et planifiées qui visent l'atteinte d'un degré optimal d'excellence en ce qui a trait à la qualité des services rendus aux clients.
Contrôle de la qualité :	Opérations techniques et ensemble des activités qui sont utilisées pour répondre aux exigences de la qualité.
Politique :	Énoncé général et lignes directrices sur le déroulement et l'application des procédures du service.

Protocole :	Énoncé de règles.
Procédure :	Instructions détaillées du déroulement des opérations à effectuer, des mesures à utiliser et des précautions à prendre pour appliquer les politiques.
Mode opératoire :	Instructions détaillant comment effectuer, étape par étape, l'exécution d'une tâche précise associée à une procédure.
Signification des termes :	Doit, devrait et peut dans ce document
Doit :	Dans ce document, ce mot signifie l'obligation de respecter ou d'appliquer les exigences décrites.
Devrait :	Dans ce document, ce mot signifie que des bases scientifiques appuient la règle décrite et qu'il est recommandé de la respecter ou de l'appliquer.
Peut :	Dans ce document, ce mot signifie que l'énoncé est considéré valable, que son application est souhaitable, mais qu'elle demeure à la discrétion du technologiste médical.

3.0 Mesures de sécurité

Il est essentiel de développer et de mettre en place un programme de prévention des risques liés à la santé et à la sécurité au laboratoire. Ce programme, tout en respectant la réglementation en cours, devrait inclure³²⁻⁶¹⁻⁶⁶ :

- Une procédure écrite détaillant les risques inhérents et les risques propres au laboratoire de l'établissement concerné, la liste des équipements de protection individuel et collectif disponibles au laboratoire ainsi que la liste et les informations spécifiques sur les produits chimiques dangereux utilisés;
- Un programme de formation à l'embauche ainsi qu'un programme de formation continue pour le personnel;
- La mise en place d'une documentation relative à la santé-sécurité et d'un système d'information servant à enregistrer les incidents et les accidents ainsi que les mesures correctrices apportées.

Les mesures et les équipements de sécurité mis en place serviront à diminuer les risques liés à la santé et à la sécurité des employés. Ils se jumellent aux mesures de prévention des infections, lesquelles visent à protéger le patient et le travailleur de la santé. Le technologiste médical doit être en mesure de déterminer les situations dans lesquelles une collaboration ou de l'équipement de protection spécifique est nécessaire.

Lors de la manipulation d'échantillons sanguins, de liquides biologiques et autres échantillons, les « Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les établissements de santé³² » doivent être suivies. Les équipements de protection individuel et collectif appropriés doivent être disponibles (gants, sarraus, visières, contenants réglementaires pour l'élimination des déchets dangereux, enceinte de biosécurité, etc.) dans les lieux immédiats où ils doivent être utilisés, et ce, en fonction du risque établi et observé.

Le lavage des mains demeure le moyen le plus efficace de prévenir la transmission des infections nosocomiales.

Les lieux doivent être propres et les surfaces de travail doivent être nettoyées tous les jours avec un désinfectant ou avec un germicide reconnu. Lors de tout déversement accidentel ou chaque fois qu'une contamination de surface est visible ou soupçonnée, la surface de travail doit être désinfectée selon une procédure établie.

Le matériel souillé doit être désinfecté, stérilisé s'il y a lieu, et ce, conformément aux politiques de l'établissement et à la législation en vigueur³³.

Il faut souligner qu'un programme de prévention comprenant des mesures de sécurité efficaces et reconnues est basé sur la responsabilité partagée à tous les niveaux : personnel de laboratoire, gestionnaire, employeur, comités de prévention des infections et de santé et sécurité.

4.0 Ressources humaines

L'apport des ressources humaines est une valeur importante dans l'application d'un programme d'assurance de la qualité.

Tout nouvel employé doit bénéficier d'une période initiale d'orientation et de formation. Par la suite, le technologiste médical aura droit à une période de formation avant la mise en application d'une nouvelle procédure dans son champ d'activité.

Les renseignements suivants devraient être accessibles à tout le personnel du laboratoire :

- Une description écrite de la structure organisationnelle du laboratoire;
- Un énoncé de la politique et des objectifs du programme d'assurance de la qualité;
- Une description écrite du champ de pratique du technologiste médical.

Il est souhaitable que ces renseignements soient inclus dans le manuel des politiques et des directives (*voir la section 8.1*).

Le technologiste médical a le devoir de maintenir ses connaissances à jour dans son champ de pratique et devrait régulièrement participer à des activités de formation continue, telles que conférences, programmes ou séminaires de formation continue, lectures scientifiques, congrès³⁰⁻⁶⁰.

Il saura développer un sentiment d'appartenance à l'équipe et une capacité de communication nécessaire à la réalisation d'un travail de qualité.

5.0 Matériel didactique et de référence en hématologie

Pour l'accomplissement du travail quotidien, ainsi que pour l'orientation et la formation continue, les technologistes doivent disposer de matériel récent dont :

- Des volumes de références;
- Des planches représentant les éléments cellulaires anormaux : atlas hématologique ou logiciel traitant de la morphologie cellulaire;
- Une collection de lames pour l'identification de cellules.

6.0 Prélèvement et acheminement des échantillons

L'obtention d'un échantillon sanguin de qualité est à la base de tout résultat d'analyse fiable. Toutes procédures inadéquates relatives à la ponction, à l'identification, à la manipulation et au transport des prélèvements peuvent entraîner l'émission de résultats erronés.

Toutes les étapes du prélèvement doivent être réalisées selon les règles normatives de l'O.P.T.M.Q., « Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins d'analyse³ » et « Prélèvement de sang par ponction capillaire pour fins d'analyse⁴ ».

6.1 Répertoire des analyses

Le laboratoire doit avoir un répertoire des analyses maintenu à jour contenant les renseignements suivants : le nom de l'analyse, le tube à utiliser, la quantité d'échantillons à prélever, les formulaires de demande appropriés (lorsque utilisés), les restrictions alimentaires, les conditions appropriées pour le transport, les délais à respecter entre le prélèvement et l'analyse, ainsi que toute information et directives spéciales relatives à l'analyse ou au prélèvement.

Le laboratoire doit fournir ces directives écrites à toute personne ou établissement lui soumettant des spécimens pour analyse.

6.2 Anticoagulants pour échantillons hématologiques

Les anticoagulants préviennent la coagulation du sang *in vitro* et sont utilisés lorsque l'analyse est effectuée sur le sang entier ou sur le plasma. Les anticoagulants les plus utilisés pour les échantillons destinés aux analyses hématologiques sont l'EDTA, le citrate de sodium et l'héparine.

6.2.1 EDTA

L'EDTA (acide éthylènediaminetétracétique) est l'anticoagulant utilisé pour les analyses courantes d'hématologie, parce qu'il assure la conservation des éléments figurés du sang². L'EDTA prévient la coagulation du sang par son action de chélation sur le calcium.

Dans les tubes de prélèvement sous vide, l'EDTA se retrouve sous deux formes principales : EDTA K₂ (dipotassium EDTA dihydrate ou sels dipotassiques) et EDTA K₃ (tripotassium EDTA anhydre ou sels tripotassiques).

L'EDTA K₂ est l'anticoagulant de choix pour les analyses de routine en hématologie². Selon l'*International Council for Standards in Hematology (ICSH)* les résultats des hématocrites obtenus avec l'EDTA K₂ sont moins variables⁷. De plus, selon l'ICSH, l'adoption d'un seul anticoagulant permettrait une meilleure normalisation des techniques hématologiques¹⁻⁶⁻⁷.

6.2.2 Citrate de sodium

Le tube à bouchon noir contenant du citrate de sodium à un volume de 1 :4 (1 volume de citrate de sodium pour 4 volumes de sang) est utilisé en hématologie pour l'analyse de la vitesse de sédimentation des érythrocytes selon la méthode Westergren originale¹⁷. Son action anticoagulante se situe au niveau des ions calcium qu'il neutralise en formant un complexe citrate de calcium.

Le tube à bouchon bleu, pour les analyses de coagulation, contenant du citrate de sodium à un volume 1 :9 (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang) est utilisé en hématologie dans les cas de satellitisme plaquettaire et dans certains cas d'agrégation plaquettaire². À cause du facteur de dilution du sang par l'anticoagulant, il faut alors corriger le nombre de plaquettes obtenu en le multipliant par 1,1 ou additionner 10 % à la numération plaquettaire¹².

6.2.3 Héparine

L'héparine est l'anticoagulant de choix si l'on veut éviter une hémolyse des érythrocytes. Il sera utilisé, par exemple, pour la recherche de la fragilité osmotique¹.

Il agit comme antithrombine en inhibant directement l'action de la thrombine sur le fibrinogène.

Il ne faut pas utiliser de sang hépariné pour la préparation d'un frot-tis sanguin. L'héparine occasionne des distorsions morphologiques au niveau leucocytaire et plaquettaire¹⁷.

6.3 Ratio sang/anticoagulant

La qualité et la stabilité du spécimen d'hématologie sont directement reliées au respect du ratio adéquat de sang/anticoagulant dans le tube de prélèvement.

Idéalement, le ratio sang/anticoagulant de l'échantillon doit être optimal. Cependant, pour les cas difficiles, il semble qu'une variation du ratio sang/anticoagulant inférieure de 10 %²⁹ à 20 %⁵³ du volume optimal n'occasionne pas de différence significative dans le résultat et soit considérée comme acceptable²⁹.

Nous suggérons fortement l'utilisation de tubes témoins affichant le volume minimal et maximal pour chaque format de tubes utilisés.

Pour un spécimen ne contenant pas un minimum de 80 % de son volume optimal, une annotation à cet effet devrait accompagner le résultat.

Dans un tube où la quantité de sang est moindre, l'excès d'anticoagulant provoque des changements morphologiques dans les cellules sanguines². Par exemple, ce milieu hypertonique entraînera une déshydratation des érythrocytes⁶ (fausse diminution de l'hématocrite et du VGM).

Pour assurer un mélange sang/anticoagulant adéquat, les tubes doivent être mélangés par inversion de 5 à 10 fois après le prélèvement.

6.4 Identification de l'échantillon

L'identification adéquate de l'échantillon est une étape préanalytique importante, les éléments suivants doivent être respectés :

- Chaque échantillon doit être identifié individuellement;
- Chaque échantillon doit porter une double identification, soit le nom et prénom du client et un numéro d'identification personnalisé.

Pour obtenir plus de détails, consulter les règles normatives sur les ponctions veineuses et les ponctions capillaires de l'O.P.T.M.Q.³⁻⁴.

6.5 Transport et délais de conservation

Les délais de conservation des spécimens peuvent varier selon l'analyse, la condition clinique du client, l'instrumentation, les réactifs et les conditions dans lesquelles les spécimens sont conservés ou transportés².

Pour assurer la qualité de cette étape préanalytique, le laboratoire devrait établir pour chaque analyse hématologique, des procédures écrites relatives :

- Aux délais de conservation;
- Aux conditions de transport appropriées;
- Aux conditions particulières de conservation qu'exige l'analyse.

Les exigences préanalytiques, dont les délais de conservation spécifiques à certaines analyses hématologiques, seront abordées dans les sections correspondantes de ce document.

6.6 Conditions préanalytiques relatives à l'analyse de la formule sanguine complète

Pour les prélèvements sanguins destinés à l'analyse de la formule sanguine complète, la procédure doit permettre de maintenir l'intégrité des éléments figurés du sang, soit les leucocytes (ou globules blancs), les érythrocytes (ou globules rouges ou hématies) et les plaquettes (ou thrombocytes).

6.6.1 Prélèvements veineux pour la formule sanguine

Effectuer le prélèvement et la collecte de l'échantillon selon les procédures reconnues et l'ordre de prélèvement préconisé dans les règles normatives « Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins d'analyse » de l'O.P.T.M.Q.

Mélanger le sang à l'anticoagulant en inversant le tube de 5 à 10 fois. Un mélange inadéquat du composé sang/anticoagulant pourra entraîner l'agrégation des plaquettes et une altération des éléments cellulaires.

6.6.1.1 Délais de conservation des spécimens veineux avec EDTA

Les références et les études sur les délais de conservation des spécimens s'entendent sur le fait que la durée de conservation varie selon le paramètre hématologique analysé, le type de clientèle, le mode de conservation de l'échantillon, la technologie de l'analyseur hématologique²⁻⁶⁻²⁹.

Afin d'obtenir les conditions optimales de conservation pour tous les paramètres de la formule sanguine complète (FSC), les délais de conservation suivants sont recommandés.

- Effectuer l'analyse complète de la formule sanguine dans un délai de **4 à 6 heures**⁷ pour un spécimen veineux avec EDTA conservé entre **18 et 24 °C**.
- Stabiliser le plus rapidement possible les spécimens qui ne peuvent être analysés à l'intérieur du délai optimal de 4 à 6 heures. La stabilisation consiste à réaliser 2 frottis sanguins par spécimen pour analyse manuelle de la formule leucocytaire et à conserver ensuite le spécimen à une température de 4 °C⁵. Prolonger le délai de conservation au-delà de 24 heures n'est pas recommandé⁷.

Le spécimen conservé à 4 °C doit être ramené à la température de la pièce avant l'analyse.

En ce qui a trait aux échantillons prélevés avec EDTA et conservés à la température de la pièce (entre 18 et 24 °C), des études ont démontré une augmentation significative du volume globulaire moyen (VGM)²⁰ et de l'indice de distribution volumétrique des érythrocytes (IDVE) après 8 heures de conservation⁸⁻⁹.

Note : Le laboratoire devrait confirmer par ses propres études la validité des délais de conservation recommandés par le fabricant lorsque ceux-ci excèdent les normes.

6.6.2 Prélèvements capillaires pour la formule sanguine

Effectuer le prélèvement et la collecte de l'échantillon selon les procédures reconnues et l'ordre de prélèvement préconisé dans les règles normatives « Prélèvement de sang par ponction capillaire pour fins d'analyse » de l'O.P.T.M.Q.

Note : Mélanger l'échantillon en effectuant une dizaine de retournements. Un mélange inadéquat du tube à microprélèvement pourra entraîner l'agrégation des plaquettes et une altération des éléments cellulaires.

6.6.2.1 Délais de conservation des spécimens capillaires

Le sang capillaire est un mélange de sang provenant d'artérioles, de veinules et de vaisseaux capillaires qui peut contenir aussi du liquide interstitiel et intracellulaire⁴⁻¹⁷. À cause de sa composition, la durée de conservation d'un spécimen capillaire avec EDTA peut varier comparé à un spécimen veineux.

- Effectuer l'analyse complète de la formule sanguine dans un délai de **4 heures**⁵⁶ pour un spécimen capillaire avec EDTA.

7.0 Réception et traitement des échantillons

Le technologiste médical doit s'assurer que l'échantillon reçu est conforme aux critères de qualité déterminés pour l'examen avant de procéder à l'analyse¹⁰⁻¹¹.

7.1 Conformité du prélèvement et critères de rejet

Un protocole décrivant les conditions de rejet de spécimens doit être établi par chaque laboratoire en collaboration étroite avec le technologiste médical

et le ou les hématologues. Le protocole de rejet de spécimens doit tenir compte des conditions suivantes :

- L'identification adéquate du spécimen; la double identification doit être respectée³⁻⁴;
- La manipulation, les conditions et le délai de transport du spécimen;
- L'intégrité de l'échantillon lui-même : hémolyse, respect du ratio sang/anticoagulant, présence de caillot dans un spécimen anticoagulé.

Tous les partenaires soumettant des spécimens au laboratoire doivent connaître ce protocole et en avoir une copie.

Si un spécimen est jugé non acceptable, un rapport écrit, expliquant la raison du rejet, doit être remis au requérant.

7.2 Registre d'échantillons

La réception d'un échantillon au laboratoire sera notée dans un registre, soit sur papier, soit sur support informatique avant de procéder à l'analyse²³.

Ce registre, qui peut prendre la forme du double de la demande d'analyse, doit contenir tous les renseignements permettant d'identifier le client, le professionnel demandeur, la ou les analyses prescrites, l'heure et la date du prélèvement, l'heure et la date de réception du spécimen³⁰. Ce registre devrait aussi mentionner la personne qui effectue le prélèvement.

On doit prévoir un espace pour inscrire la raison du rejet de tout spécimen dont l'état est jugé non satisfaisant (*voir la section 7.1*), toute inscription portera les initiales du technologiste médical.

7.3 Envoi d'analyses à d'autres laboratoires

Si les échantillons sont envoyés à un laboratoire sous-traitant pour analyse, le laboratoire requérant doit conserver un répertoire de tous les laboratoires auxquels il fait appel²⁵. De plus, le technologiste médical doit consigner, dans un registre, les renseignements suivants :

- Nom de l'analyse;
- Nom et prénom du client;
- Numéro d'identification personnalisé du client;
- Date de l'envoi;
- Date de réception et d'acheminement du résultat - le nom et l'adresse du laboratoire responsable de l'examen doit apparaître sur le compte rendu²⁵.

L'emballage des envois doit respecter la réglementation en vigueur, les règles normatives de l'O.P.T.M.Q. sur le « Transport et manipulation de pro-

duits biologiques et de matières infectieuses » ainsi que les recommandations du ministère de la Santé et des Services sociaux, « Manipulation et transport des spécimens biologiques : Normes et recommandations, laboratoire de biologie médicale »²⁴.

Un protocole écrit doit permettre d'assurer le suivi des résultats²³.

8.0 Manuels de laboratoire

8.1 Manuel des politiques et des directives

Le manuel des politiques et des directives du service de biologie médicale contient l'information sur la structure organisationnelle, les procédés, les procédures et les ressources nécessaires à l'application générale du programme d'assurance de la qualité au laboratoire.

Un mécanisme d'information devrait faire en sorte que tous les membres du personnel connaissent ces politiques et directives et se sentent concernés par leur mise en application.

Ce manuel devrait contenir les renseignements décrits ci-dessous.

8.1.1 Politiques et directives générales

Le service au client devrait se placer au centre des préoccupations des technologistes médicaux et se relier aux directives établies.

L'information produite découle des règles et politiques de l'établissement et tient compte de chaque service du laboratoire, elle devrait décrire²⁵ :

- La structure organisationnelle du laboratoire, la mission, l'éthique, la réglementation en vigueur, la hiérarchie et les responsabilités de chaque niveau de personnel;
- Le contrôle des documents (méthode de diffusion, processus de mise à jour, délais de conservation ainsi que d'enregistrement et d'archivage, etc.);
- Les politiques et directives qui encadrent la formation initiale et continue de tout le personnel;
- Les politiques et directives qui encadrent la confidentialité des renseignements (les communications par télécopieur, les codes d'accès aux systèmes informatiques, la signature électronique, etc.), les échanges et communications avec le client (mode de transmission, correction d'erreurs sur un résultat transmis, etc.);
- Les politiques entourant les mesures de sécurité du laboratoire;

- Les relations avec tout autre organisme avec lequel il est associé (centre de prélèvement, laboratoire d'analyses spécialisées, etc.);
- Les plans d'intervention pour les mesures d'urgence;
- Et toutes autres politiques internes de gestion au laboratoire.

8.1.2 Procédures en cas de panne de courant

Dans le manuel des politiques et des directives, il est utile de prévoir et de décrire les procédures en cas de panne de courant, de défektivité mineure ou majeure des appareils de laboratoire. Ces procédures devraient contenir les renseignements relatifs à :

- La présence d'un système d'alimentation électrique d'urgence;
- L'utilisation d'un appareil de soutien;
- L'envoi d'un spécimen à un autre laboratoire;
- La procédure écrite de remise en marche.

8.1.3 Procédures en cas de panne informatique

Des procédures écrites doivent décrire le mode opératoire du fonctionnement manuel en cas de panne informatique. Ce mode opératoire doit couvrir toutes les étapes de l'analyse, de la réception du spécimen à l'acheminement des résultats.

De plus, les procédures de remise en marche et de l'enregistrement de toutes les données doivent être documentées.

8.2 Manuel des techniques et des procédures

Le manuel des techniques et des procédures doit définir clairement le mode opératoire spécifique de toutes les techniques en usage au laboratoire.

Ce manuel doit être accessible à tout le personnel et doit décrire :
(adapté du NCCLS GP2-A3 ²¹)

- Le principe et l'utilité clinique de l'analyse;
- Les exigences spécifiques à l'échantillon (préparation du patient, diète spéciale, conditions de conservation et d'entreposage, conditions de rejet, procédures d'envoi pour les analyses effectuées dans un autre centre);
- Le mode de préparation des échantillons en vue de l'analyse. Ce mode de préparation doit être décrit étape par étape. Lorsqu'il s'agit d'instrumentation, les recommandations du fabricant doivent être prises en considération;
- La solution de calibrage et les solutions de contrôle à utiliser;
- Le mode de préparation et de conservation des réactifs utilisés;

- L'appareil ou le matériel à utiliser;
- La description, étape par étape, de la technique;
- Les calculs;
- La fréquence d'utilisation des solutions de contrôle, la limite de tolérance de ces contrôles ainsi que les mesures correctrices à apporter en cas de valeurs de contrôle situées hors des limites établies;
- Les valeurs de référence;
- Les valeurs critiques et les valeurs paniques ainsi que la procédure à suivre dans ces cas;
- La linéarité;
- Les limites de la méthode, les interférences et autres précautions particulières. Les interférences possibles doivent être déterminées et décrites. Il est important d'en évaluer toutes les catégories - les interférences liées au prélèvement, aux médicaments et à l'état clinique du client;
- L'interprétation des résultats;
- Les références;
- Le processus de validation de la technique : rédaction, vérification et approbation;
- La date de l'entrée en vigueur, la date de révision, l'identité du rédacteur et de la personne qui approuve la technique.

L'information relative au mode de saisie et de transmission des résultats, la conduite à suivre lors de pannes électriques et informatiques et les mesures correctrices s'y rapportant sont documentées dans le manuel des politiques et des directives. Cependant, une référence à ce sujet doit être mentionnée dans le manuel des techniques et des procédures.

8.3 Manuel des procédures d'utilisation des appareils

Tous les instruments et appareils du laboratoire doivent être accompagnés d'un manuel des procédures d'utilisation.

Ce manuel doit être accessible en tout temps et contenir les renseignements minimaux suivants²¹⁻²⁵ :

- La description du matériel ainsi que tous les renseignements relatifs au fabricant (nom, numéro de série, personne à contacter, etc.);
- La date de réception et de mise en service;
- Le calibrage;
- Le mode opératoire;

- Le calendrier des entretiens préventifs;
- La description des différentes étapes de l'entretien préventif ou correctif;
- La fréquence de vérification de l'exactitude et de la précision (calibrage, solutions de contrôle).

Note : Le manuel d'utilisation du fabricant, d'où provient l'information détaillée sur l'appareil, peut aussi servir de manuel des procédures d'utilisation s'il contient tous les points énumérés et si la langue utilisée est compréhensible pour tous les technologues médicaux.

8.4 Manuel des procédures du système informatique

Ce manuel doit décrire les modes opératoires de toutes les étapes du processus informatique, de la saisie de la requête jusqu'à l'acheminement et à l'archivage du résultat.

De plus, un répertoire des différents codes informatiques nécessaires à la saisie des données (analyses, noms de médecin, etc.) doit être disponible.

8.5 Révision annuelle

Les manuels de laboratoire devraient être révisés annuellement et toute modification paraphée et datée²¹.

8.6 Registre des incidents et des mesures correctrices

Le registre des incidents sert à décrire objectivement les problèmes qui peuvent survenir au laboratoire, à en déterminer la cause et à documenter les mesures correctrices apportées.

L'information ainsi recueillie permet d'évaluer les besoins, de remédier ponctuellement aux problèmes et d'améliorer à long terme la qualité du service offert.

8.7 Registre des actions posées et des changements

L'enregistrement et le suivi des données touchent toutes les opérations et actions posées au laboratoire.

Toute action, qu'elle soit préventive ou correctrice doit être enregistrée, datée et paraphée sur un support adéquat (papier ou informatique).

9.0 Politiques générales du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité s'insère dans le programme d'assurance de la qualité et comprend la mise en place de mesures techniques et statistiques dans le but de réduire les erreurs systémiques et aléatoires dans les procédures analytiques de laboratoire tout en visant l'atteinte de l'objectif zéro erreur.

On peut définir la qualité d'une analyse ou d'un examen de laboratoire d'après sa fiabilité à représenter l'état clinique du client. La qualité de la mesure analytique peut être, quant à elle, définie selon son exactitude et sa précision.

9.1 Application générale du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité s'applique aux réactifs, aux produits, à l'instrumentation et à l'équipement spécialisé.

Le contrôle de qualité devrait :

- Être adapté à chaque procédure analytique en tenant compte des conditions environnementales propres à chaque milieu;
- Établir des procédures documentées pour chaque processus analytique;
- Documenter les sources d'erreurs pouvant être reliées à une analyse de laboratoire spécifique;
- Permettre de dépister et d'identifier une erreur analytique (erreur aléatoire ou erreur systémique);
- Développer et appliquer les critères d'interprétation et les seuils de tolérance qui déterminent l'acceptation ou le rejet d'une série d'analyses¹⁹;
- Prévoir l'enregistrement et l'archivage des résultats de contrôle selon les politiques en vigueur.

Note : Nous aborderons, de façon plus détaillée, certaines mesures de surveillance de la qualité propres à chaque processus analytique dans les sections qui suivent.

9.2 Analyses sans matériel commercial de contrôle

Certaines analyses d'hématologie sont difficiles à contrôler, parce qu'il n'existe pas présentement de matériel commercial de contrôle approprié ou facilement accessible.

Dans cette catégorie d'analyses, nous retrouvons, par exemple, les analyses manuelles comme la formule leucocytaire, la numération des éosinophiles et la numération des éléments cellulaires d'un liquide biologique.

Pour ces analyses, l'exactitude et la précision sont assurées par l'application et le suivi des procédures de standardisation, l'établissement de mode opératoire détaillé des techniques ainsi que par la formation continue des technologues médicaux¹⁷.

9.3 Contrôle de qualité externe

Il est fortement recommandé d'adhérer à un programme externe de contrôle de qualité.

Les échantillons, analysés comme des inconnus, proviennent d'un organisme extérieur au laboratoire. Les résultats sont ensuite retournés à cet organisme qui compile les données et remet un rapport aux participants.

La participation à un programme de contrôle de qualité externe permet d'apprécier la précision et l'exactitude de la méthode d'analyse, de détecter des erreurs systémiques et de comparer la performance du laboratoire, sur le plan de l'exactitude, avec celle des autres participants.

9.4 Politiques relatives à la non conformité

Pour toute non-conformité du contrôle de qualité interne ou externe, un protocole écrit devrait :

- Décrire les étapes à suivre pour déceler et corriger le problème;
- Établir un processus décisionnel quant au sort des résultats visés (rejet total, reprise partielle ou totale, validé tel quel);
- Permettre de déterminer si l'erreur a un impact clinique sur le patient et décrire les mesures à prendre.

10.0 Réactifs

Un répertoire des réactifs utilisés doit être disponible et doit inclure :

- La description des produits qui doit répondre aux exigences SIMDUT;
- Les directives d'entreposage du fabricant;
- La préparation, la vérification et les conditions de conservation des réactifs;
- L'enregistrement des dates de péremption et du numéro de lot des solutions commerciales;
- Les modalités de préparation des réactifs en laboratoire, lesquelles doivent faire partie intégrante du manuel des techniques et des procédures de l'analyse;
- Le mode d'identification du contenant : date de préparation, date de péremption, concentration, ainsi que les initiales du technologiste médical.

11.0 Instrumentation

L'instrumentation est une composante importante du processus analytique. Malgré la performance accrue des fonctionnalités des appareils, le technologiste médical doit connaître le fonctionnement de l'instrument et demeurer vigilant quant à son utilisation.

11.1 Connaissances de l'instrumentation

Au sujet de l'instrumentation utilisée, le technologiste médical doit connaître :

- Le principe;
- La linéarité;
- Les interférences;
- Les mesures correctrices;
- Le contrôle de qualité applicable;
- Les entretiens préventifs;
- Les sources d'erreurs.

11.2 Manuel des procédures d'utilisation des appareils

Tous les instruments et appareils du laboratoire doivent être accompagnés d'un manuel des procédures d'utilisation. (*Voir la section 8.3.*)

11.3 Réfrigérateur, congélateur, bain-marie et étuve

Le technologiste médical vérifie, enregistre, date et paraphe quotidiennement la température de chaque appareil. Les données doivent être conservées par le laboratoire pour au moins deux ans.

11.4 Centrifugeuse et cytocentrifugeuse

La vitesse de centrifugation doit être vérifiée à l'aide d'un tachymètre. Le technologiste médical établit un protocole de vérification de la vitesse de centrifugation en incluant un calendrier des opérations. Toutes les interventions doivent être datées et paraphées. Les registres doivent être conservés au moins deux ans.

11.5 Microscope

Un microscope ajusté et entretenu de façon optimale est un élément essentiel à l'exactitude de tout examen microscopique visant la numération et la reconnaissance d'éléments cellulaires qui mènent à l'identification de processus pathologiques.

Le technologiste médical devrait avoir des connaissances de base des composantes et des principes du microscope¹⁷.

Le technologiste médical devrait :

- Déterminer la fréquence de l'entretien préventif du microscope;
- S'assurer qu'une vérification annuelle est effectuée par un spécialiste;
- Enregistrer, dater et parapher les deux procédures précédentes.

11.5.1 Ajustement de l'éclairage de Köhler

L'ajustement de l'éclairage de Köhler assure un éclairage total et uniforme du champ microscopique et donne une image claire et précise de l'objet observé⁵⁵.

La procédure d'ajustement de l'éclairage, selon la méthode de Köhler, doit être décrite et devrait être effectuée par le technologiste médical avant l'utilisation du microscope¹⁷. (*Voir l'annexe 7.*)

11.6 Pipettes automatiques et diluteurs

Le technologiste médical doit vérifier le calibrage de toute nouvelle pipette automatique ou diluteur. Par la suite, il établit un protocole de vérification du calibrage incluant le calendrier des procédures d'entretien. Il date et paraphé toutes les interventions.

12.0 Contrôle de qualité des analyseurs cellulaires

L'application du contrôle de qualité des analyseurs cellulaires d'hématologie est particulière à cette discipline, compte tenu de la complexité de la méthode et des facteurs qui peuvent influencer et altérer les résultats des différents paramètres de la formule sanguine. Parmi ces facteurs, notons :

- Plusieurs analyses à partir d'un même réactif sur les mêmes cellules;
- Interrelation des différents paramètres;
- Analyse simultanée des différents paramètres;
- Spécimen à l'état frais;
- Suspension cellulaire pour les contrôles commerciaux et les solutions de calibrage qui sont sensibles aux conditions de transport, de conservation et de manipulation.

La vigilance, l'expertise et le jugement du technologiste médical se placent donc à la base de toute approche du contrôle de qualité des analyseurs d'hématologie.

Bien que le contrôle de qualité puisse être plus élaboré, les outils fournis ici devraient, à tout le moins, faire partie du programme de surveillance de la qualité en hématologie.

Les points qui suivent devraient faire partie intégrante du protocole de contrôle de qualité :

- Établir et rédiger un protocole de contrôle de qualité pour l'analyseur cellulaire en incluant, au moins, les points abordés dans ce chapitre. Ce protocole devrait se retrouver dans le manuel de procédures d'utilisation de l'analyseur (*voir la section 8.3*);
- Respecter les règles et procédures définies dans les politiques générales du contrôle de qualité (*voir la section 9.0*);
- Adopter une procédure de calibrage reconnue;
- Intégrer une méthode de surveillance pour déceler les erreurs systématiques et aléatoires de chaque série d'analyses (ou après un nombre d'échantillons déterminé par le laboratoire) et un suivi journalier, hebdomadaire et mensuel des résultats de contrôle de qualité;
- Établir, par écrit, une procédure de résolution de problème en cas de non-conformité du contrôle de qualité.

12.1 Principes de mesure

Les principes de mesure des analyseurs cellulaires d'hématologie varient en fonction de l'appareil utilisé et du paramètre analysé. Le technologiste médical doit connaître le ou les principes de mesure de l'appareil utilisé pour ainsi pouvoir détecter une erreur aléatoire ou une interférence.

L'hémogramme est composé de plusieurs paramètres, dont certains sont comptés, d'autres mesurés et calculés¹. Le technologiste médical doit connaître la nature de ces paramètres afin d'être en mesure d'interpréter et de valider les résultats.

12.2 Calibrage

Le calibrage se définit comme une série d'opérations qui établit des valeurs pour un ou des paramètres donnés, afin que le résultat reflète la valeur réelle, qui est elle-même définie selon une méthode de référence reconnue¹⁷⁻³⁸.

12.2.1 Solutions de calibrage

Sur les analyseurs d'hématologie, le calibrage s'effectue à partir d'une solution de référence commerciale, spécifique au calibrage, dont les valeurs sont prédéterminées de façon très précise par le fabricant. Les solutions de calibrage doivent être utilisées et conservées en suivant rigoureusement les recommandations du fabricant.

Le calibrage avec du sang frais, qui nécessite l'établissement des valeurs pour chaque paramètre à l'aide d'une méthode de référence reconnue, est rarement utilisé aujourd'hui dans les institutions médicales¹⁷⁻³⁸. Cependant, c'est la méthode employée par les fabricants pour déterminer les valeurs de leurs solutions de calibrage commerciales³⁸.

12.2.2 Procédure de calibrage

La procédure de calibrage peut varier selon le type d'appareil et doit être détaillée dans le manuel des procédures d'utilisation qui lui est propre.

Pour éviter qu'un problème de l'appareil ne cause un mauvais ajustement des valeurs lors du calibrage, il faut, avant d'entamer la procédure de calibrage³⁸ :

- Effectuer la maintenance préventive;
- Vérifier les principales variables électroniques, physiques et analytiques.

Après le calibrage, une procédure écrite doit décrire le mode opératoire servant à vérifier si l'appareil est adéquatement calibré³⁸.

12.2.2.1 Vérification du calibrage

Il peut s'avérer utile, dans certaines circonstances, de vérifier le calibrage de l'appareil. La vérification du calibrage s'effectue en analysant les solutions de calibrage de la même façon qu'un échantillon d'un client¹⁶.

12.2.3 Fréquences de calibrage

Le calibrage de l'appareil s'effectue³⁸ :

- Lors de l'installation initiale;
- Une à deux fois par année après une vérification complète;
- Après une réparation majeure;
- Lorsque le fabricant recommande un calibrage ou une vérification du calibrage plus fréquent¹⁶;
- Lorsque les valeurs des solutions de contrôle de qualité se situent en dehors des limites acceptables ou reflètent un biais analytique¹⁶. La cause du problème doit être déterminée et corrigée avant de procéder au recalibrage.

12.3 Utilisation des solutions commerciales de contrôle

La fonction première des solutions commerciales de contrôle consiste à surveiller quotidiennement, de façon continue et à plus ou moins long terme, les performances et le niveau de précision et d'exactitude d'un appareil¹⁷.

Les solutions commerciales ont généralement trois niveaux de concentration : bas, normal, élevé.

12.3.1 Caractéristiques des solutions commerciales de contrôle

Les solutions commerciales de contrôle sont sensibles aux variations subies durant le transport et aux conditions de conservation. En effet, les cellules en suspension sont sujettes à la détérioration étant donné leurs propriétés biologiques.

Le produit doit être conservé dans les conditions prescrites par le fabricant et sa stabilité doit être assurée pour la période d'utilisation.

La fiole doit être ramenée à la température de la pièce et la solution mélangée de façon homogène avant l'utilisation, selon les recommandations du fabricant.

Le mode d'utilisation et de conservation des solutions commerciales de contrôle doit être expliqué dans le manuel des procédures d'utilisation de l'appareil, et ce, dans la section consacrée au contrôle de la qualité.

12.3.2 Vérification d'un nouveau lot de solutions de contrôle

Pour s'assurer du bon état de la solution commerciale de contrôle :

- Vérifier le surnageant de la solution pour voir s'il y a présence d'une hémolyse anormale;
- Vérifier, en parallèle avec l'ancien lot, la concordance des résultats;
- Observer l'histogramme de la distribution cellulaire sur votre analyseur afin de déterminer s'il y a une distribution anormale des courbes.

Le fabricant doit être avisé de tout écart inacceptable et un nouveau lot sera commandé.

12.3.3 Validation des valeurs cibles du nouveau lot de solutions commerciales de contrôle

Lors de l'utilisation d'un nouveau lot de solutions de contrôle, celui-ci devrait être analysé parallèlement avec le lot en cours pendant quatre jours³⁸, et ce, jusqu'à l'obtention de 8 à 10 valeurs pour chaque niveau.

12.3.3.1 Valeurs cibles conformes aux valeurs attendues

Les valeurs obtenues doivent se situer à l'intérieur de deux écarts types (de préférence près des valeurs moyennes) des valeurs cibles fournies par le fabricant¹⁷.

Bien que le fabricant fournisse des valeurs attendues aux solutions commerciales de contrôle, les moyennes obtenues sur place doivent être comparées à celles établies par le fabricant¹. Selon les bonnes pratiques, le laboratoire devrait établir ses propres valeurs moyennes pour chacun des paramètres et ce pour chaque appareil³⁸.

12.3.3.2 Valeurs cibles hors limites

Lorsqu'un ou des résultats des solutions commerciales de contrôle s'éloignent sensiblement des valeurs obtenues précédemment, la qualité de la solution elle-même doit être vérifiée en premier lieu¹⁷. (*Voir la section 12.3.2.*)

Par la suite, s'il s'avère que la solution de contrôle est conforme, une comparaison avec les résultats des contrôles du lot précédent, l'analyse des résultats de l'algorithme de Bull (*voir l'annexe 4*) et des autres outils du contrôle de qualité devraient permettre de déterminer la cause et d'apporter les mesures correctrices appropriées.

La participation à un contrôle externe et la vérification de l'indice de déviation standard de ce contrôle sont des outils précieux qui permettent d'éliminer ou de confirmer la présence d'un biais analytique.

12.3.4 Fréquence d'utilisation des solutions commerciales de contrôle

Les trois niveaux de solutions commerciales de contrôle devraient être analysés simultanément au moins une fois toutes les 24 heures. Ces solutions de contrôle devraient être analysées après avoir effectué les procédures reconnues de mise en marche de l'appareil¹.

Au moins deux niveaux de solutions commerciales de contrôle devraient être analysés à chaque quart de travail¹⁷⁻³¹.

Le processus de vérification du bon état des solutions commerciales de contrôle est continu. Les critères utilisés pour valider un nouveau lot permettent de surveiller la qualité de la solution commerciale de contrôle en cours d'utilisation.

12.3.5 Évaluation des résultats des solutions commerciales de contrôle

La méthode de surveillance et le suivi des résultats des solutions commerciales de contrôle devront permettre, lorsque les résultats sont hors limites, de distinguer une erreur aléatoire, d'une perte de précision ou d'une perte d'exactitude.

Un protocole écrit (*voir la section 8.3*) doit décrire les écarts acceptables et les mesures correctrices à observer lorsque ces écarts ne sont pas respectés.

Le technologiste médical devrait connaître les résultats obtenus avec les solutions commerciales de contrôle, être apte à interpréter les graphiques (par exemple, Levey-Jennings) et à intervenir. Sur ce plan, les règles de Westgard peuvent être utiles pour interpréter les valeurs des contrôles et établir un processus d'intervention.

L'interprétation des résultats des solutions commerciales de contrôle doit permettre au technologiste médical d'accepter ou de rejeter un résultat, de reprendre une analyse ou une série d'essais.

En plus du suivi continu, une analyse hebdomadaire et mensuelle des résultats du contrôle de la qualité doit être effectuée par la personne qui en est responsable.

12.4 Contrôle de reproductibilité journalier avec un échantillon client

Un échantillon client ou un échantillon provenant d'un volontaire devrait être analysé à plusieurs reprises sur une période de 24 heures. Ce contrôle permet de vérifier la reproductibilité tout au long de la journée.

Cet échantillon devrait idéalement être séparé en aliquote pour préserver l'intégrité du spécimen et éviter les contaminations causées par un pipetage répétitif (particules de bouchon).

Choisir un échantillon dont les valeurs se situent près des valeurs normales et ayant un volume adéquat pour servir 24 heures¹⁷. Conserver cet échantillon à 4 °C et ramener à la température ambiante avant l'analyse.

La formule leucocytaire automatisée ne peut être contrôlée de cette façon, car les éléments ne sont pas stables 24 heures.

Chaque laboratoire devrait déterminer la fréquence des mesures multiples effectuées sur l'échantillon client servant de contrôle.

Note : La fréquence à laquelle cet échantillon devrait être analysé dépend du volume des analyses et du type de clientèle particulière à chaque laboratoire. Plusieurs laboratoires mesurent ce contrôle à chaque 20 échantillons ou tou-

tes les deux heures. Cependant, il devrait être analysé lorsque l'appareil a été en arrêt pendant plus d'une heure.

12.4.1 Évaluation des résultats

Les valeurs obtenues doivent être enregistrées.

Vérifier si les coefficients de variation des paramètres se situent dans les limites de variabilité établies par le laboratoire ou par le fabricant.

12.5 Contrôle de qualité en utilisant les résultats des clients

Le suivi des résultats de clients peut être une source importante de renseignements en ce qui a trait au contrôle de qualité. Ces méthodes de suivi sont basées sur l'étude mathématique et statistique de paramètres hématologiques.

Ces méthodes de contrôle peuvent être intégrées au système informatique de l'appareil. Le technologiste médical doit être en mesure de comprendre et d'interpréter les résultats de ces méthodes de contrôle.

Les points qui suivent décrivent deux de ces méthodes.

12.5.1 Algorithme de Bull ou moyenne flottante pondérée ou \bar{X}_B

Le calcul de la moyenne flottante pondérée ou \bar{X}_B (études de Bull, 1974, et de Koepke, 1981) s'appuie sur le principe que les moyennes respectives des indices érythrocytaires VGM, TGMH et CGMH sont une constante universelle. Les moyennes des indices sont stables dans le temps sur différents échantillons d'un même client.

La plupart des composantes informatiques des analyseurs d'hématologie effectuent ce calcul statistique sur des séries de 20 spécimens analysés. La moyenne des derniers 20 spécimens est comparée à la valeur cible pour chacun des indices et, à tous les 400 clients, les moyennes globales sont comparées.

Le calcul de la moyenne flottante pondérée \bar{X}_B de ces indices érythrocytaires permet de déceler³⁸ :

- Une erreur systématique ou de méthodologie (ex. : réactif détérioré);
- L'absence de biais analytique, donc l'exactitude des résultats;
- Un mauvais fonctionnement de l'appareil.

L'algorithme de Bull analyse les données et prévient l'opérateur par l'entremise d'un message d'erreur quand la moyenne des écarts dépasse les limites acceptables de 3 %.

Lorsque deux séries consécutives de 20 clients sont en dehors des limites pour deux paramètres, des mesures correctrices doivent être prises. (Voir l'annexe 4.)

Le technologiste médical doit :

- S'assurer qu'un processus d'analyse et d'interprétation des moyennes \bar{X}_B soit décrit dans la section portant sur le contrôle de la qualité du manuel des procédures d'utilisation de l'appareil;
- Aviser la personne responsable du contrôle de qualité lorsque les résultats sont hors des limites acceptables et apporter les correctifs selon la procédure établie;
- Documenter les mesures correctrices.

Note : Lorsque le technologiste médical responsable envisage d'apporter des correctifs, il doit prendre en considération la population qui compose les 20 derniers spécimens; par exemple, une clientèle pédiatrique ou en oncologie pourra démontrer un écart à la moyenne sans que l'appareil n'ait un problème.

12.5.2 Règle de trois

Bien que les appareils automatisés, par l'entremise des indices érythrocytaires, nous fournissent déjà une bonne information, la règle de trois, « $3 \times \text{Hb (g/dL)} = \text{Hct (\%)} \pm 3$ », offre un autre outil permettant de vérifier, par exemple, la présence d'agglutinines froides ou de lactescence dans le spécimen³⁸.

Le technologiste médical utilise son expérience et son jugement pour cerner le problème et apporter la mesure correctrice adéquate, tout en respectant les protocoles établis.

Cette règle s'applique seulement lorsque les érythrocytes sont normochromes et normocytaires¹⁷.

12.6 Détection d'erreur aléatoire à l'aide du « *Delta Check* »

Les erreurs aléatoires sont plus difficiles à détecter que les erreurs systématiques, qui sont mises en évidence par les mesures du contrôle de qualité. Une erreur aléatoire est une erreur unique qui se retrouve isolée parmi d'autres résultats valides¹. Le calcul du « *Delta Check* », qui s'effectue en comparant le résultat actuel d'un client donné avec son résultat précédent, est l'un des moyens les plus efficaces de détection de ce type d'erreur¹⁷.

La méthode de contrôle du « *Delta Check* » est le calcul informatisé ou manuel établissant la différence entre le résultat actuel d'un paramètre pour un client donné et son résultat antérieur le plus récent et, ensuite, la comparaison de cette différence du résultat avec les limites acceptables préétablies pour ce paramètre¹⁷.

Les erreurs décelées à l'aide de cette méthode de calcul sont généralement reliées à :

- Une erreur d'identification du spécimen;
- Un prélèvement de qualité douteuse;
- Un problème technique isolé.

Lorsque le technologiste médical interprète le résultat de la comparaison (*delta check*) et sa concordance avec les limites acceptables établies il doit :

- Prendre en considération les interventions subies par le client et le délai écoulé entre le prélèvement des deux spécimens;
- Contrôler l'analyse;
- Vérifier l'identité et la qualité du spécimen;
- Contrôler avec un nouveau spécimen si nécessaire.

Note : Si le résultat demeure inchangé, un commentaire devrait accompagner ce résultat.

12.7 Corrélation entre l'appareil principal et l'appareil de soutien

Une corrélation entre l'appareil principal et l'appareil de soutien doit être effectuée régulièrement dans un processus continu de contrôle de qualité et à plus forte raison, lors de l'installation, d'une réparation ou d'un calibrage. Toute intervention doit être documentée, datée et paraphée.

Les variations de résultats obtenus sur les deux appareils ne doivent pas être cliniquement significatives¹⁷. Les valeurs de référence devraient être les mêmes pour les deux appareils.

Le suivi du contrôle de qualité et un contrôle externe permettent de suivre les tendances de chaque appareil et de vérifier la corrélation entre les deux systèmes.

Note : Dans le cadre d'un processus d'évaluation pour l'achat d'un appareil, une corrélation initiale avec l'appareil déjà en place devrait faire partie des critères de sélection.

12.8 Politiques relatives aux interventions selon les signaux d'alarme et les messages d'erreur

Plusieurs analyseurs d'hématologie sont munis de deux systèmes de critères pour avertir l'opérateur d'un problème potentiel. Un des systèmes d'alarme est ajusté par le fabricant alors que l'autre, généralement quantitatif, est déterminé par l'utilisateur.

Chaque laboratoire doit :

- Documenter et décrire, dans le manuel d'utilisation de l'appareil, dans la section portant sur le contrôle de qualité, les différents signaux d'alarme et messages d'erreur émis par l'analyseur;
- Définir, avec le médecin spécialiste du service, les valeurs cliniquement significatives des paramètres hématologiques et établir en conséquence les messages d'erreurs;
- Déterminer les interventions ou mesures correctrices à observer pour vérifier ou valider un résultat signalé par un code d'erreur avant d'émettre le résultat final;
- Établir un protocole qui, une fois le message d'erreur identifié, indique si, selon le type de clientèle (ex. : hémodialyse, oncologie), l'étude d'un frottis sanguin pour la validation des résultats par le technologiste médical ou par l'hématologue est nécessaire.

Note : Pour vérifier tous les paramètres hématologiques des analyseurs cellulaires, l'étude des frottis sanguins périphériques demeure la technique de choix²⁸.

12.9 Sources possibles d'erreurs analytiques

Il existe de nombreuses sources d'erreurs analytiques, le technologiste médical doit connaître les causes possibles de résultats erronés. Il est donc important de lire la documentation inhérente à chaque appareil. (*Voir l'annexe 2.*)

13.0 Frottis sanguin périphérique

L'examen du frottis sanguin périphérique a pour but :

- D'estimer la numération des leucocytes, des érythrocytes et des plaquettes;
- D'identifier et de quantifier en valeur relative (pourcentage ou décimale) les différents types de leucocytes;
- D'apprécier la morphologie des leucocytes, des érythrocytes et des plaquettes;
- De valider les résultats des indices érythrocytaires;
- De valider le résultat des analyses des réticulocytes et de la vitesse de sédimentation.

13.1 Identification du frottis sanguin

Le frottis sanguin doit, au moins, porter une double identification, c'est à dire : nom et prénom du client et numéro d'identification personnalisé. De plus, la date devrait être inscrite sur chaque frottis¹⁷.

13.2 Délais pour confectionner un frottis

Idéalement, pour un échantillon de sang avec EDTA, le frottis sanguin devrait être confectionné dans l'heure suivant le prélèvement⁵⁴. Cependant, un frottis sanguin de qualité acceptable peut être confectionné dans les délais suivants :

- Pour un **échantillon veineux avec EDTA**, confectionner le frottis dans un délai **de moins de 4 heures**²⁹. Ne pas réfrigérer le spécimen avant la confection du frottis²⁹.
- Pour un **échantillon capillaire**, dans un tube à microprélèvement contenant de l'EDTA, confectionner le frottis **moins de 4 heures** après le prélèvement²⁹⁻⁵⁶.

Idéalement, deux frottis sanguins devraient être confectionnés directement à partir du site de ponction capillaire. Ceci élimine toute distorsion ou interférence due à l'anticoagulant⁶.

Note : Si le délai optimal entre le prélèvement et l'analyse complète de la formule sanguine ne peut être respecté, confectionner deux frottis sanguins le plus rapidement possible après le prélèvement. Chez les clients présentant des anomalies hématologiques, les distorsions cellulaires du spécimen avec EDTA peuvent apparaître plus rapidement.

13.3 Confection du frottis sanguin

La confection du frottis sanguin, qui consiste à étaler une goutte de sang sur une lame de verre, peut être effectuée manuellement ou mécaniquement à l'aide d'appareils automatiques et semi-automatiques.

Le frottis sanguin doit répondre aux critères de qualité reconnus suivants :

- Être mince, régulier et uniforme;
- Se terminer en pointe arrondie (pinceau) ou carrée;
- Comporter des marges;
- Être séché complètement et rapidement à l'air avant la coloration afin d'éviter la formation d'artéfacts et une altération de la morphologie des érythrocytes¹.

13.4 Coloration de base

La coloration du frottis sanguin doit permettre d'identifier les éléments cellulaires en mettant en évidence les caractéristiques propres à chacun.

13.4.1 Colorants

Les colorations au Wright, Wright-Giemsa et May-Grünwald-Giemsa sont les plus utilisées au Québec.

Pour les critères de qualité reliés à l'identification, à la préparation, à la vérification et aux conditions de conservation des colorants, suivre les modalités établies précédemment dans la section traitant des réactifs. (Voir la section 10.)

13.4.2 Technique et procédure

Le mode opératoire de la coloration doit être décrit dans le manuel des techniques et des procédures. S'il s'agit d'une technique automatisée, le manuel des procédures d'utilisation de l'appareil devra aussi être disponible. (Voir la section 8.0.)

13.4.3 Critères de qualité de la coloration

Une coloration adéquate est garante d'une bonne différenciation des éléments cellulaires et de l'exactitude du résultat.

La qualité de la coloration est évaluée par la teinte des éléments cellulaires observés au microscope. Une description des couleurs attendues de chacun des éléments cellulaires devrait être décrite dans le cahier des techniques et des procédures¹⁻¹⁷.

Le technologiste médical doit connaître :

- Les critères de qualité d'une bonne coloration;
- Les causes d'erreurs reliées à cette coloration;
- L'entretien préventif des outils utilisés pour la coloration.

13.5 Exactitude et uniformité de l'examen du frottis sanguin

Pour assurer l'exactitude et l'uniformité de l'examen microscopique du frottis sanguin, un ensemble d'étapes doivent être exécutées.

13.5.1 Méthode d'examen du frottis sanguin

Le technologiste médical doit connaître le protocole d'examen du frottis sanguin. Cet examen comporte les étapes décrites ci-dessous.

13.5.1.1 Examen macroscopique

Pour vérifier la qualité de l'étalement du frottis et, sommairement, la qualité de la coloration.

13.5.1.2 Examen microscopique à faible grossissement

Pour vérifier la coloration, la distribution des éléments figurés du sang, la présence ou l'absence d'anémie, estimer la numération leucocytaire ainsi que choisir la zone idéale pour effectuer la formule leucocytaire.

13.5.1.3 Examen microscopique à fort grossissement

Pour effectuer la formule leucocytaire, l'estimation plaquettaire et l'évaluation morphologique des éléments figurés du sang.

13.5.2 Standardisation de l'appréciation de la morphologie cellulaire

L'appréciation de la morphologie cellulaire (leucocytes, érythrocytes et plaquettes) doit suivre un protocole de standardisation écrit.

13.5.2.1 Lecture et identification

Ce protocole doit détailler la méthode :

- D'observation du frottis pour vérifier la qualité de l'étalement et de la coloration ainsi que la distribution des éléments figurés du sang;
- De recherche et d'identification des anomalies leucocytaires;
- D'étude de la morphologie des érythrocytes et des plaquettes.

13.5.2.2 Charte de nomenclature et de quantification

Ce protocole doit détailler la nomenclature et le degré de notation des anomalies morphologiques observables au microscope pour les leucocytes, les érythrocytes et les plaquettes.

13.5.3 Méthodes d'estimation des numérations globulaires

Malgré des appareils extrêmement sophistiqués en hématologie, il n'en demeure pas moins que les méthodes d'estimation au microscope restent les méthodes de choix pour valider les numérations de leucocytes et de plaquettes obtenues à l'aide de ces appareils.

Le laboratoire d'hématologie doit établir un protocole détaillé des méthodes d'estimation des numérations globulaires. Tous les technologues médicaux doivent connaître les éléments de ce protocole et être en mesure de les appliquer.

13.5.4 Correction de la numération des leucocytes en présence d'érythroblastes

La présence d'un seul érythroblaste sur un frottis sanguin est anormale et doit être documentée sur le rapport.

La numération des leucocytes doit être corrigée lorsqu'il y a plus de 5 érythroblastes pour 100 leucocytes¹⁻¹⁷. Les érythroblastes devraient être comptés et le résultat exprimé en nombre par 100 leucocytes.

Une procédure écrite doit décrire le calcul, la méthode de correction de la numération des leucocytes selon le nombre d'érythroblastes observés, ainsi que la façon d'inscrire le résultat corrigé sur le rapport final.

Si cette procédure est automatisée et intégrée au système informatique, une mention à ce sujet doit être écrite dans le manuel des techniques et des procédures.

13.5.5 Correction des autres sources d'interférences avec les paramètres hématologiques

En plus des érythroblastes qui peuvent interférer au niveau des paramètres hématologiques, le technologiste médical doit connaître les autres sources d'interférences (agglutinines froides, lactescence, hyperleucocytose, etc.) et être en mesure d'apporter les correctifs nécessaires pour assurer la validité des résultats. (*Voir l'annexe 2.*)

Des procédures écrites doivent décrire chacune de ces sources d'interférences et les mesures correctrices qui s'appliquent. (*Voir la section 8.2.*)

Si la procédure est automatisée et intégrée au système informatique, une mention à ce sujet doit être écrite dans le manuel des techniques et des procédures.

13.5.6 Artéfacts du frottis sanguin périphérique

Le technologiste médical doit connaître les artéfacts qui peuvent être observés durant l'examen des frottis sanguins au microscope.

Pour les échantillons prélevés avec EDTA et conservés à la température de la pièce (de 18 à 24 °C), voici quelques exemples d'artéfacts :

- Une légère vacuolisation des monocytes une heure après le prélèvement;

- Une vacuolisation modérée des monocytes et légère des granulocytes neutrophiles après trois à quatre heures de conservation³⁻⁷;
- Une augmentation du pourcentage des granulocytes et une diminution du pourcentage des lymphocytes et des monocytes après huit heures de conservation⁸;
- Les érythrocytes peuvent avoir une apparence crénelée après six heures de conservation du spécimen¹⁷;
- Les ponctuations basophiles et les corps de Döhle peuvent disparaître¹⁷;
- Les érythrocytes peuvent présenter une pseudohypochromie lorsque le séchage est trop lent.

13.5.7 Cellules éclatées

En établissant la formule leucocytaire, le technologiste médical devrait retrouver moins de 0,02 à 0,05 de leucocytes éclatés ou non identifiables (sauf dans certains états pathologiques comme la leucémie lymphoïde chronique)²⁹.

- Les leucocytes altérés et non identifiables ne devraient pas être comptés dans la formule leucocytaire, mais devraient plutôt être classifiés comme tels et rapportés dans la section des commentaires sur le résultat final¹⁷⁻²⁹.

Note : Pour réduire sensiblement la formation d'ombres de Gumprecht (*smudge cells*), ajouter 1 goutte d'albumine bovine à 22 % à 5 gouttes de sang et étaler le frottis à partir de ce mélange²⁹.

13.6 Rédaction du rapport de la formule leucocytaire

Le technologiste médical doit savoir exprimer ses résultats dans un langage clair et scientifique.

De plus, il est souhaitable d'établir une terminologie ou une nomenclature uniforme pour la rédaction du rapport.

Lors de la transcription de données, le cas échéant, il est important de porter une attention particulière à l'exactitude des données reproduites.

13.7 Politiques d'envoi des frottis sanguins à l'hématologue

Lorsque les frottis sont anormaux, des critères et des politiques doivent être établis, avec l'hématologue, pour décrire les cas où le frottis doit lui être transmis pour interprétation ou confirmation du résultat.

13.8 Recherche et identification des parasites sanguins

Dans les maladies à parasites sanguins, telles que la malaria, la babésiose, la trypanosomiase, la filariose, etc., la détection et l'identification des parasites intracellulaires et extracellulaires du sang sur le frottis sanguin demeurent cruciales pour établir le diagnostic et le suivi.

Comme on remarque une recrudescence des parasitoses sanguines, le technologiste médical doit être vigilant lors de l'examen des frottis et doit maintenir ses connaissances à jour dans ce domaine.

La malaria est une infection qui peut mettre la vie du client en danger et toute demande de recherche de malaria devrait être considérée comme une demande urgente et être traitée, peu importe le jour ou l'heure³⁴.

13.8.1 Considérations spécifiques à la recherche de parasites

Les techniques de recherche de parasites doivent être décrites dans le manuel des techniques et des procédures (*voir la section 8.2*). Les considérations spécifiques ci-dessous doivent aussi être décrites dans ce manuel.

13.8.1.1 Prélèvement et délais de conservation pour la recherche de parasites

Pour assurer la qualité du prélèvement, le technologiste médical doit tenir compte des facteurs préanalytiques suivants :

- La confection de frottis sanguin directement à partir d'une ponction capillaire, demeure préférable pour la recherche de parasites³⁴;
- Si un prélèvement veineux doit être utilisé, le spécimen devrait être prélevé avec EDTA. Les frottis doivent être confectionnés le plus rapidement possible, soit moins d'une heure après le prélèvement pour la recherche de malaria⁵⁹ et moins de deux heures après le prélèvement pour la recherche des autres parasites sanguins³⁴.

Le parasite de la malaria étant plus fragile, la présence d'anticoagulant peut occasionner la distorsion des parasites et la diminution de leur nombre présent sur le frottis⁵⁹. De façon générale, le sang prélevé depuis plus d'une heure ne devrait pas être utilisé pour la recherche de malaria⁵⁹.

- La période optimale pour effectuer le prélèvement doit tenir compte du type de parasite recherché.

13.8.1.2 Préparation des frottis

Un nombre suffisant de lames devrait être préparé en prévision de colorations supplémentaires ou de besoins particuliers :

- Au moins 4 frottis devraient être étalés : 2 frottis à gouttes minces et 2 frottis à gouttes épaisses³⁴;
- Pour des colorations cytochimiques, prévoir un plus grand nombre de frottis;
- Des techniques de concentration peuvent être utilisées pour la détection d'éléments peu nombreux : triple centrifugation, filtration, couche leucoplaquettaire (*buffy coat*).

13.8.1.3 Colorations

La coloration des frottis au Giemsa-Gurr est recommandée pour la recherche de parasites³⁴⁻³⁷⁻⁵⁹.

Les colorations hématologiques de base, telles que Wright-Giemsa et May-Grünwald-Giemsa, ne sont pas recommandées pour l'identification de parasites.

Bien que les parasites sanguins puissent parfois être visibles sur le frottis ainsi coloré, le pH de 6,8, utilisé habituellement lors de ces colorations, n'est pas optimal pour la conservation des caractères morphologiques des parasites de la malaria⁶⁰. Le maintien d'un pH entre 7,0 et 7,2 pour le tampon de la coloration est critique.

Note : L'identification de l'espèce peut nécessiter un autre type de coloration.

13.8.1.4 Examen microscopique

Pour la détection et l'identification des parasites, l'examen microscopique devrait :

- Être effectué à faible et à fort grossissement;
- Couvrir au moins 300 champs avec l'objectif à immersion 100x sur une goutte mince³⁴ et 100 champs sur une goutte épaisse.

Note : Le technologiste médical doit connaître les artéfacts qui peuvent être observés lors de la recherche de parasites : plaquettes, débris et inclusions des érythrocytes ainsi que contaminants du processus de coloration.

13.8.1.5 Taux de parasitémie

Une méthode de détermination du taux de parasitémie doit être établie par chaque centre. Cette méthode doit être constante, parce qu'elle est très importante pour le suivi du traitement du client.

13.8.2 Contrôle de qualité pour les parasites

En plus d'établir des méthodes générales internes de contrôle de qualité (*voir la section 9*), le laboratoire devrait :

- Confirmer le résultat de la recherche de parasites par un autre technologiste médical ou par un hématologue ou un microbiologiste;
- Standardiser les méthodes de préparation des frottis⁵⁹;
- Adopter un programme de contrôle du processus et du résultat de la coloration⁵⁹. L'utilisation de lames témoins positives colorées en même temps que les lames clients est recommandée⁵⁹;
- Standardiser, à l'aide d'un protocole écrit, la lecture microscopique des parasites et le taux de parasitémie;
- Établir un protocole pour déclarer les maladies à déclaration obligatoire;
- Maintenir à jour les compétences des technologistes médicaux qui effectuent cette analyse;
- Établir un lien avec un centre de référence en maladies tropicales pour confirmer un diagnostic ou pour obtenir des renseignements techniques;
- Participer à un programme externe de contrôle de qualité, tel que celui du Laboratoire de santé publique du Québec (L.S.P.Q.).

Note : Des cas de non-détection de parasites sanguins par des méthodes automatisées de formule leucocytaire ont été rapportés³⁴. Par conséquent, l'utilisation de la formule leucocytaire automatisée (analyseur d'hématologie), sans observation du frottis sanguin, n'est pas recommandée lorsqu'il y a une probabilité de maladie à parasites sanguins³⁴.

13.9 Participation à un contrôle externe de la qualité

Il est recommandé de participer à un contrôle externe de la qualité. Au Québec, le Laboratoire de santé publique du Québec (L.S.P.Q.) offre un programme externe de contrôle de qualité pour les frottis sanguins.

13.10 Délai de conservation des frottis sanguins

Pour le délai de conservation des frottis sanguins, établir un calendrier de conservation et respecter la réglementation en vigueur.

13.11 Formation continue

L'examen du frottis sanguin périphérique nécessite jugement et compétence. Une formation initiale adéquate, ainsi qu'un processus de formation continue pour tous les technologues médicaux œuvrant dans ce domaine devraient faire partie du programme d'assurance de la qualité.

14.0 Réticulocytes

Les techniques de numération des réticulocytes avec des colorants vitaux s'effectuent de façon manuelle depuis longtemps. Aujourd'hui, bien que ces dernières soient toujours utilisées, elles sont de plus en plus remplacées par des techniques automatisées, telles que la cytométrie en flux, ce qui augmente l'exactitude et la reproductibilité des résultats, sans toutefois éliminer les causes d'interférence.

La numération des réticulocytes permet d'estimer l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse, de classer l'anémie et d'évaluer l'efficacité d'un traitement¹⁻¹⁴.

14.1 Définition du réticulocyte

L'ICSH (*International Council for Standards in Hematology*) a déterminé qu'une cellule, pour être classée réticulocyte, doit contenir un minimum de **deux** particules granulo-filamenteuses de couleur bleue, visibles au microscope⁶⁻¹³.

14.2 Prélèvement requis

La numération des réticulocytes s'effectue sur un spécimen de sang entier prélevé dans un tube avec l'EDTA comme anticoagulant.

14.3 Délais de conservation des échantillons pour la numération des réticulocytes

Il est recommandé d'effectuer la numération des réticulocytes le plus rapidement possible après le prélèvement.

- Pour un échantillon sanguin prélevé avec EDTA et conservé entre **18 et 24 °C**, effectuer la numération des réticulocytes dans un délai de **6 heures** après le prélèvement¹³.

Dans les cas où le délai optimal d'analyse ne peut être respecté, il est recommandé de réfrigérer le spécimen.

Selon le NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), un spécimen conservé entre 2 et 6 °C, peut être stable jusqu'à 72 heures¹³, en respectant toutefois les conditions suivantes :

- Le spécimen ne doit montrer aucune hémolyse visible;
- La numération des érythrocytes devrait être stable, c'est-à-dire avoir un coefficient de variation inférieur à 3 %¹³.

Le laboratoire devrait effectuer une étude de corrélation afin de valider ce délai de conservation compte tenu de sa méthode d'analyse.

Note : Une maturation in vitro des réticulocytes peut se produire. Le degré de maturation est influencé par le facteur temps ainsi que par la température ambiante. Après 24 heures à la température de la pièce, on peut perdre jusqu'à 20 % des réticulocytes¹³ (ce pourcentage peut varier selon la méthode de numération utilisée).

14.4 Méthode manuelle de numération des réticulocytes

La technique de référence pour la numération manuelle des réticulocytes est la coloration au bleu de méthylène nouveau¹³. Le colorant est plus stable d'un lot à un autre et les particules granulofilamenteuses apparaissent, au microscope, plus nettes et uniformes qu'avec les autres colorants vitaux¹.

Les points qui suivent décrivent les critères de qualité de la méthode manuelle.

14.4.1 Coloration

La méthode de coloration doit être décrite (*voir la section 13.4 et la section 17.0*). De plus, le technologiste médical devrait établir et utiliser des procédures pour contrôler la méthode de coloration :

- La filtration adéquate, afin d'éviter les précipités de colorant sur la lame;
- La proportion optimale du ratio sang/colorant;
- Le temps d'incubation du mélange sang/colorant.

La qualité d'un nouveau lot de colorant devrait être vérifiée avant l'utilisation. La comparaison de la coloration en parallèle avec l'ancien lot peut être utilisée dans ce but.

Pour l'identification, la préparation et les conditions de conservation des réactifs de coloration, respecter les conditions décrites précédemment dans la section traitant des réactifs (*voir la section 10.0*).

14.4.2 Étalement du frottis

L'agitation adéquate du mélange sang/colorant, avant l'étalement du frottis, est primordiale à la qualité de la numération des réticulocytes. En effet, la densité des réticulocytes est plus faible que celle des érythrocytes matures, ils se retrouvent donc à la surface du mélange après la période d'incubation¹⁷.

14.4.3 Examen microscopique

Pour l'examen microscopique de la numération des réticulocytes, les points suivants doivent être respectés :

- Choisir une région du frottis où les globules sont rapprochés les uns des autres, sans se toucher ni se chevaucher (par exemple, 100 érythrocytes par champ);
- Compter les réticulocytes et les érythrocytes séparément dans chaque champ. Au moins 1000 érythrocytes doivent être comptés sur deux lames (minimum de 500 par lame). Cette étape peut être effectuée par deux technologues médicaux¹³⁻¹⁷;
- S'assurer que les écarts entre le pourcentage de réticulocytes obtenu sur chaque lame ne dépasse pas 20 %. Compter une troisième lame si l'écart est supérieur à 20 %¹⁻¹⁷;
- Vérifier la corrélation entre un taux élevé de réticulocytes, le degré de polychromatophilie observé sur le frottis coloré et la coloration de routine utilisée dans le laboratoire.

Note : L'utilisation d'un disque de Miller pour la numération des réticulocytes semble augmenter la précision, parce qu'il permet de compter un nombre plus grand d'érythrocytes. Le disque de Miller se place dans l'un des oculaires du microscope. S'assurer de respecter une utilisation conforme et standardisée du disque de Miller (*voir l'annexe 1*).

14.4.3.1 Artéfacts

Un séchage inadéquat du frottis peut entraîner l'apparition d'artéfacts réfringents dans les érythrocytes. Il importe de différencier ces artéfacts des particules granulo-filamenteuses d'ARN du réticulocyte, qui elles, ne sont pas réfringentes.

14.4.3.2 Interférences avec d'autres inclusions cellulaires

Les colorants vitaux colorent aussi les corps de Howell-Jolly, de Heinz, de Pappenheimer et les inclusions d'hémoglobine H⁶.

Les éléments suivants peuvent contribuer à différencier le réticulocyte des autres inclusions cellulaires :

- Les corps de Heinz sont colorés par les colorants vitaux. Ils se retrouvent à la périphérie du globule rouge et sont généralement plus gros que les particules granulo-filamenteuses d'ARN du réticulocyte¹⁷;
- Les corps de Pappenheimer et de Howell-Jolly sont colorés par les colorations de Romanowsky alors que les particules d'ARN du réticulocyte ne le sont pas. La présence de ces inclusions peut être vérifiée par l'examen du frottis coloré au Wright-Giemsa ou au May-Grünwald-Giemsa¹⁻¹⁷;
- La contre-coloration au Wright-Giemsa ou au May-Grünwald-Giemsa fera disparaître les corps de Heinz et les inclusions d'hémoglobine H alors que les corps de Howell-Jolly et de Pappenheimer demeureront présents;
- La présence de corps de Pappenheimer devrait être confirmée par une coloration du fer (Perls, Bleu de Prusse)¹⁷, ces inclusions étant plus facilement confondues avec les réticulocytes¹⁷.

Malgré tout, lorsque plusieurs inclusions différentes occupent le globule rouge, il est parfois difficile de les différencier et le technologiste médical doit demeurer vigilant.

14.5 Méthodes automatisées de numération des réticulocytes

Plusieurs méthodes automatisées de numération des réticulocytes ont été introduites dans les années 1990. Ces méthodes permettent d'augmenter la précision du décompte des réticulocytes principalement parce que la numération s'effectue sur un plus grand nombre d'érythrocytes¹⁵.

14.5.1 Coloration

Pour les méthodes semi-automatisées, c'est-à-dire qui requièrent une préparation manuelle de l'échantillon avant la numération automatisée, le mode opératoire de la préparation de l'échantillon doit être décrit dans le manuel des techniques et des procédures.

Pour l'identification, la préparation et les conditions de conservation des réactifs de coloration, respecter les conditions décrites précédemment dans la section traitant des réactifs (*voir la section 10.0*).

14.5.2 Contrôle de qualité des appareils de mesure

Le protocole de contrôle de qualité de l'appareil de mesure doit être décrit dans le manuel de procédures d'utilisation de l'appareil visé.

Ce protocole doit détailler les procédures de vérification de la précision et de l'exactitude, et décrire l'entretien préventif de l'appareil en ce qui a trait à la numération des réticulocytes (*voir la section 9.0 et la section 11.0*).

Comme la fonction de numération des réticulocytes est de plus en plus souvent intégrée à l'analyseur cellulaire d'hématologie, les procédures de contrôle de qualité relatives à cette fonction de l'analyseur, devraient être conformes aux politiques établies précédemment dans la section traitant du contrôle de qualité des analyseurs cellulaires (*voir la section 12.0*).

14.5.3 Interférences

L'exactitude de la numération des réticulocytes peut être altérée par la présence d'éléments qui interfèrent à différentes étapes du processus analytique.

Le tableau, à l'annexe 6, énumère des sources connues ou potentielles d'interférences. Le technologiste médical devrait connaître les interférences inhérentes à sa méthode d'analyse et faire appel à son jugement et à ses connaissances pour éviter l'obtention de résultats erronés.

Note : Il est important de vérifier, sur un frottis coloré au Wright-Giemsa ou au May-Grünwald-Giemsa, la présence d'éléments qui pourraient fausser les résultats.

14.6 Valeurs de référence

Chaque laboratoire devrait déterminer ses propres valeurs de référence selon la méthode d'analyse utilisée¹³.

Les valeurs de référence des réticulocytes sont généralement exprimées en valeur relative (pourcentage ou décimale) ou en valeur absolue. Les valeurs de référence peuvent varier selon la méthode de numération et le colorant utilisé.

Un résultat de réticulocytes exprimé en valeur absolue est cliniquement plus significatif¹⁵.

Une application innovatrice de la numération automatisée des réticulocytes semble être la mesure de la maturation des réticulocytes. De récentes études appuient l'utilisation du IRF, « *immature reticulocyte fraction* »¹³⁻¹⁵, pour exprimer le degré de maturation. Bien qu'il n'y ait pas encore de consensus sur la façon de rapporter cette mesure, son utilité clinique paraît de plus en plus évidente¹³⁻¹⁵⁻⁴⁸.

15.0 Vitesse de sédimentation des érythrocytes

La vitesse de sédimentation est une analyse qui mesure la vitesse de chute des érythrocytes en suspension dans le plasma.

Bien qu'il existe différentes méthodes de sédimentation, la méthode Westergren demeure la méthode de référence reconnue par l'*International Council for Standards in Hematology* (ICSH)²².

15.1 Principe de la méthode

Le processus de sédimentation s'effectue en trois étapes distinctes :

1. La phase d'agrégation, est l'étape de la formation des rouleaux. C'est une étape où il y a normalement peu de sédimentation;
2. La phase de chute ou de décantation, influencée par le nombre et la qualité des rouleaux;
3. La phase finale ou d'entassement des agrégats d'érythrocytes au fond du tube.

Les tubes de sédimentation étant de diamètre calibré, le résultat de l'analyse équivaut à la mesure de la hauteur de la colonne de plasma après un intervalle déterminé.

15.2 Spécimen requis pour la vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation des érythrocytes s'effectue sur un spécimen de sang entier, non hémolysé²²⁻⁴⁷, prélevé dans un tube avec EDTA ou dans un tube de citrate de sodium à 3,8 % (rapport de 1 volume d'anticoagulant pour 4 volumes de sang, bouchon noir).

Le ratio sang/anticoagulant doit être respecté. Lorsque nous utilisons le système jetable de sédimentation, où le tube de prélèvement est aussi le tube de sédimentation, le remplissage adéquat est essentiel à la qualité de l'analyse.

Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun, la vitesse de sédimentation n'est pas modifiée par la prise de nourriture³⁶⁻⁴⁹.

Il existe un système jetable conçu pour réaliser la sédimentation par la méthode de Westergren, directement dans le tube de prélèvement. L'utilisation de ce tube avec citrate de sodium (rapport de 1 volume d'anticoagulant pour 4 volumes de sang) évite les manipulations techniques. Il faut cependant se procurer le support à sédimentation spécifique²².

Note : Ne pas utiliser un tube avec du citrate de sodium ou tube de coagulation (rapport de 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang, bouchon bleu) pour l'analyse de la vitesse de sédimentation parce qu'un changement de concentration sang/anticoagulant introduit une variable analytique qui peut influencer le résultat²².

15.3 Délais de conservation des échantillons pour la vitesse de sédimentation

Le délai entre le prélèvement et l'analyse ainsi que la température de conservation de l'échantillon sont des facteurs préanalytiques importants pour la qualité du résultat de l'analyse de la vitesse de sédimentation.

- Pour un échantillon sanguin conservé entre **18 et 24 °C**, effectuer l'analyse de la vitesse de sédimentation des érythrocytes dans un délai de **4 heures**¹⁷⁻²².
- Pour un échantillon sanguin conservé à **4 °C**, l'analyse de la vitesse de sédimentation des érythrocytes devrait être effectuée dans un délai de **12 heures**, à condition de ramener l'échantillon à la température de la pièce et de bien le mélanger avant l'analyse¹⁷⁻²².

15.4 Contrôle de la qualité

Le contrôle de la qualité de l'analyse de la vitesse de sédimentation des érythrocytes, doit permettre d'évaluer l'exactitude et la précision de la méthode d'analyse ainsi que de contrôler les facteurs de variabilité qui peuvent influencer les résultats.

L'utilisation de solutions commerciales de contrôle est l'un des éléments du contrôle de la qualité analytique de la vitesse de sédimentation. Cependant, le protocole doit aussi établir une méthode de contrôle des éléments de variabilité inhérents à cette analyse.

15.4.1 Contrôle avec solutions commerciales

Il existe des solutions commerciales de contrôle pour l'analyse de la vitesse de sédimentation des érythrocytes qui permettent de vérifier de façon continue l'exactitude et la précision de la méthode d'analyse, qu'elle soit manuelle ou automatisée.

Le protocole doit établir la fréquence d'utilisation des solutions commerciales, le mode d'enregistrement des données, le suivi et l'analyse des résultats.

15.4.2 Contrôle des éléments de variabilité

De nombreux facteurs de variabilité peuvent influencer le résultat de la vitesse de sédimentation. Ces facteurs d'influence devraient être documentés. Les éléments de variabilité qui suivent en font partie.

15.4.2.1 Facteurs reliés à l'échantillon sanguin

Contrairement aux facteurs d'influence internes, telles les protéines plasmatiques et la pathologie érythrocytaire, les

facteurs d'influence externes relatifs à l'échantillon sanguin peuvent être plus facilement contrôlés.

- La collecte de l'échantillon : la présence d'un petit caillot ou d'hémolyse dans l'échantillon sanguin pourrait invalider le résultat de la vitesse de sédimentation²²⁻⁴⁷;
- L'entreposage et la préparation : l'échantillon de sang doit être à la température de la pièce (de 18 à 24 °C) et mélangé jusqu'à ce qu'il soit parfaitement homogène, avant de procéder à la sédimentation;
- Le nombre de retournements successifs nécessaire au mélange complet de l'échantillon devrait être déterminé et inscrit dans le protocole²².

Note : Pour un tube standard de 10 à 12 mm x 75 mm contenant 5 mL de sang et comprenant une bulle d'air équivalente à au moins 20 % du volume du tube, au moins 12 retournements successifs complets devraient être effectués²². Des tubes plus étroits peuvent nécessiter plus de 12 retournements successifs complets pour que le mélange de l'échantillon soit parfaitement homogène²².

15.4.2.2 Facteurs environnementaux

La sédimentation s'effectue dans un tube calibré placé sur un support vertical. Le technologiste médical doit connaître les règles d'utilisation pour une meilleure application du contrôle de la qualité. Le support à sédimentation doit être :

- De niveau et maintenir les tubes dans une position parfaitement verticale;
- À l'abri de toute vibration;
- Dans un endroit où la température est constante (de 18 à 24 °C), à l'abri du soleil, des courants d'air et éloigné des équipements de chauffage ou de refroidissement²².

15.4.2.3 Facteurs techniques

La méthodologie liée aux facteurs techniques d'exécution de l'analyse peut aussi influencer le résultat et doit être prise en considération afin d'en assurer la qualité.

- La colonne de sang doit être exempte de bulles d'air;
- La lecture de la sédimentation doit se faire à ± 1 minute de l'intervalle recommandé²²;
- Lorsque la zone de séparation entre le plasma et les érythrocytes est diffuse, le point de lecture se situe à la plus

grande densité de globules rouges²². Une note doit accompagner ce résultat sur le rapport final.

15.4.3 Validation de l'exactitude des résultats

Le technologiste médical devrait vérifier la corrélation entre le résultat de la sédimentation et²⁷:

- Le résultat des paramètres de la formule sanguine et le résultat précédent de la vitesse de sédimentation, s'il est disponible;
- Les renseignements cliniques du client, s'ils sont disponibles;
- La présence de substances interférentes, si cette information est disponible - la prise de certains médicaments réduit la vitesse de sédimentation (cinchophen, phenylbutazone, salicylate de sodium et thiosemicarbazone);
- Le frottis sanguin périphérique lorsque le résultat de la sédimentation semble discordant.

La forme et le nombre des érythrocytes ont une influence sur la vitesse de sédimentation²². Pour obtenir plus de détails à propos de l'influence de la morphologie des érythrocytes sur la vitesse de sédimentation, consulter l'annexe 3.

Note : La présence d'anémie peut augmenter la vitesse de sédimentation et donc rendre l'analyse non concluante pour la détection ou le suivi de certaines maladies. Il n'est pas suggéré de corriger le résultat de la sédimentation en présence d'une anémie¹⁷.

15.4.4 Validation de l'exactitude d'une nouvelle technique ou d'un changement dans l'équipement

Pour valider l'exactitude de la méthode de sédimentation utilisée, soit lors de la sélection d'une nouvelle technique ou lors d'un changement dans le matériel utilisé, le laboratoire devrait effectuer une étude comparative avec la méthode Westergren de référence (*voir la section 15.0*)²².

15.5 Valeurs de référence

Les valeurs de référence de la vitesse de sédimentation devraient être établies localement par chaque laboratoire. Les valeurs de référence variant avec l'âge des individus et leur sexe, il est nécessaire d'établir des valeurs pour les femmes, les hommes et les enfants.

Selon le NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), il est souhaitable d'établir des valeurs de référence pour les hommes et les femmes pour chaque tranche de dix ans de la vie adulte²².

15.6 Signification clinique

Examen non spécifique au niveau diagnostique, la vitesse de sédimentation reflète néanmoins la présence et le degré de gravité d'un processus pathologique généralement infectieux ou inflammatoire. Cette analyse sert à différencier certaines maladies, à suivre l'évolution d'un traitement ou d'une maladie. (Voir l'annexe 3.)

16.0 Moelle osseuse

Une procédure écrite et détaillée du mode de prélèvement, du traitement et de l'analyse des échantillons de moelle osseuse doit couvrir la technique d'aspiration de moelle osseuse et la biopsie médullaire.

16.1 Matériel nécessaire au prélèvement de moelle

Une liste descriptive du matériel nécessaire à la ponction de moelle et à la biopsie médullaire doit être disponible. Le technologiste médical doit connaître le matériel utilisé.

16.2 Traitement du prélèvement au chevet du client

Le technologiste médical prête assistance à l'hématologue au cours de la ponction de moelle osseuse ou de la biopsie médullaire. Au préalable, il doit recevoir une formation adéquate quant à la préparation et à la manipulation des échantillons de moelle osseuse prélevés.

En plus des tâches techniques de préparation des échantillons, le technologiste médical sera attentif aux besoins du client durant l'intervention¹⁷.

Dans le cas où deux échantillons sont prélevés à deux sites différents, le mode d'identification des lames et du spécimen doit permettre, sans équivoque, d'associer les frottis et les tissus respectifs.

16.2.1 Biopsie de moelle osseuse

L'échantillon de biopsie de moelle osseuse contient à la fois du tissu d'os et de la moelle osseuse.

16.2.1.1 Confection des frottis - Empreintes

La confection de ce type de frottis à partir de l'échantillon de biopsie de moelle osseuse s'effectue immédiatement sous forme d'empreintes multiples sur une lame.

Au moins deux frottis devraient être confectionnés ainsi¹⁷.

16.2.1.2 Traitement de l'échantillon de biopsie de moelle

Après la prise des empreintes, l'échantillon de biopsie de moelle osseuse est placé dans un contenant avec fixateur.

Le type de fixateur, la quantité à utiliser ainsi que la procédure d'identification du spécimen doivent être documentés dans le manuel des techniques et des procédures.

16.2.2 Ponction de moelle osseuse

L'échantillon d'aspiration est une suspension de sang, de tissus graisseux et de cellules hématopoïétiques.

La présence de mégakaryocytes et la libération de thromboplastine tissulaire accélèrent le processus de coagulation du liquide d'aspiration. La rapidité de traitement de l'échantillon est donc un facteur important de la qualité des examens qui en découlent¹⁷.

16.2.2.1 Traitement de l'échantillon de ponction

À l'aide d'une seringue, l'hématologue prélève de 1 à 3 mL de moelle osseuse.

Le traitement de l'échantillon doit être fait le plus rapidement possible à cause de la coagulation rapide de l'aspiration de moelle osseuse. La dextérité du technologiste médical et sa rapidité sont essentielles à l'obtention d'étalement de frottis de qualité.

Parfois, une partie de l'échantillon est immédiatement transférée dans un contenant avec anticoagulant (l'EDTA est préférable parce qu'il conserve l'intégrité cellulaire des éléments). Le choix du contenant et la quantité d'anticoagulant doivent être documentés.

16.2.2.2 Étalement direct du liquide d'aspiration

La confection des frottis de moelle osseuse à partir de la seringue s'effectue immédiatement après l'aspiration pour éviter la coagulation de l'échantillon.

Il existe différentes méthodes pour l'étalement direct du liquide d'aspiration (lame poussoir, particules écrasées, lamelle sur lamelle, etc.). La ou les méthodes utilisées devront être décrites dans le manuel des techniques et des procédures.

Les frottis devraient être séchés le plus rapidement possible pour éviter la formation d'artéfacts¹⁷.

16.2.2.3 Confection de frottis préparés à partir de particules écrasées

La confection des frottis de moelle osseuse à partir de particules écrasées (*squash preparation*) est, de préférence, effectuée au chevet du client. Dans les autres cas, les frottis peuvent être réalisés au laboratoire sur le spécimen anticoagulé avec EDTA.

16.2.2.4 Autres analyses

Pour les études de bactériologie, de cytogénétique, d'immunologie fonctionnelle et d'immunophénotypage, le technologiste médical doit connaître les étapes de préparation de l'échantillon au chevet du client.

Les protocoles de conservation et d'envoi des spécimens pour les analyses effectuées à l'extérieur doivent être documentés dans le manuel des techniques et des procédures.

16.3 Traitement du spécimen de moelle osseuse au laboratoire

Le spécimen de moelle osseuse devrait être traité dans un intervalle d'une heure¹⁷ au laboratoire.

Les étapes ou les procédés suivants doivent être documentés :

- Confection de frottis préparés à partir de particules écrasées;
- Confection de frottis préparés à partir de la couche leucoplaquettaire (*buffy coat*);
- Préparations histologiques;
- Coloration de routine adaptée à la moelle osseuse (*voir la section 13.4*);
- Colorations cytochimiques (*voir la section 17.0*).

16.4 Méthode d'examen des frottis de moelle osseuse

Un protocole d'examen et de standardisation de l'appréciation des éléments cellulaires est recommandé (*voir la section 13.5.2*). Le technologiste médical doit connaître le protocole d'examen des frottis de moelle osseuse. Cet examen comporte les étapes décrites ci-dessous⁵².

16.4.1 Examen macroscopique

Cette étape de l'examen permet d'évaluer la qualité du prélèvement de moelle osseuse en observant macroscopiquement la présence de particules sur le frottis⁵².

16.4.2 Examen microscopique à faible grossissement

Cette deuxième étape permet de :

- Évaluer la richesse cellulaire de la moelle;
- Évaluer la présence et le nombre des mégacaryocytes;
- Rechercher les cellules anormales ou caractéristiques (ex. : ostéoclastes, amas de cellules néoplasiques, mastocytes etc.).

16.4.3 Examen microscopique à l'immersion

En dernier lieu, l'examen microscopique permet de :

- Déterminer le pourcentage de chaque lignée cellulaire, au moins 500 cellules devraient être comptées pour obtenir un résultat représentatif⁵²;
- Déterminer le rapport myéloïde/érythroïde (M/E);
- Décrire les anomalies cytologiques suggérant un trouble qualitatif.

16.5 Rapport préliminaire de l'examen de la moelle osseuse

La responsabilité du rapport final de l'examen de la moelle osseuse incombe à l'hématologue. Il est souhaitable d'établir une terminologie ou une nomenclature uniforme pour la rédaction du rapport préliminaire qui sera envoyé à l'hématologue.

Ce rapport devrait contenir les éléments suivants⁵²:

- Nom, prénom, numéro d'identification du client;
- Nom du médecin;
- Date du prélèvement;
- Site de la ponction;
- Facilité ou difficulté de la ponction;
- Description du mode de confection des frottis (étalement direct, empreintes, etc.);
- Appréciation de la richesse cellulaire de la moelle;
- Pourcentage de chaque type cellulaire ;
- Rapport myéloïde/érythroïde (M/E);
- Description de la maturation et des anomalies morphologiques;
- Bilan des réserves de fer;
- Résultats de colorations cytochimiques, lorsqu'elles sont demandées.

17.0 Colorations cytochimiques

Les colorations cytochimiques s'effectuent le plus souvent, soit sur un frottis sanguin périphérique, soit sur un frottis de moelle osseuse, selon la technique et les éléments que l'on cherche à mettre en évidence.

Les colorations cytochimiques servent à orienter ou à confirmer un diagnostic spécifique et différentiel de maladies hématologiques, telles les leucémies, les anémies, etc.

17.1 Considérations techniques

Les procédures et les modes opératoires de chacune des techniques de colorations cytochimiques devront être décrits dans le manuel des techniques et des procédures. (Voir la section 8.2.)

17.2 Réactifs

La plupart des substrats de coloration sont sensibles aux variations du pH, de la température et de la lumière. Un changement dans l'un de ces facteurs peut causer un résultat faussement positif ou faussement négatif⁷.

Certains réactifs de colorations cytochimiques sont cancérigènes. Ces réactifs doivent être identifiés et les précautions inhérentes à leur manipulation décrites dans les procédures opératoires de la technique.

Pour l'identification, la préparation et les conditions de conservation des réactifs de coloration, respecter les conditions décrites précédemment dans la section sur les réactifs. (Voir la section 10.0.)

17.3 Lames témoins

Pour les colorations cytochimiques, le technologiste médical doit respecter les points suivants :

- Inclure un témoin positif et un témoin négatif dans chaque coloration cytochimique;
- Conserver une collection de lames témoins colorées mettant en évidence les éléments recherchés lors de la coloration cytochimique. Ces lames peuvent servir à évaluer la qualité de la coloration.

17.4 Interprétation et résultats

Les réactions résultant de la coloration seront décrites dans le manuel des techniques et des procédures. De plus, une échelle de gradation doit être établie, lorsque pertinente, afin de permettre une standardisation de l'interprétation des réactions. Cette étape fera partie de l'interprétation du résultat.

Le processus de standardisation couvrira aussi les résultats attendus des contrôles témoins positif et négatif.

Un tableau qui définit la corrélation entre le résultat de la coloration et l'état clinique du patient devrait être disponible au laboratoire.

18.0 Liquides biologiques

L'examen des liquides biologiques : céphalorachidien, synovial, séreux (pleural, péritonéal, péricardique), etc., pourrait à lui seul faire l'objet de règles normatives. Cette section couvre de façon minimale l'examen hématologique de ces liquides et les éléments à considérer pour en assurer la qualité.

L'examen d'un liquide biologique, indépendamment de son origine, permet de détecter ou de faire le suivi d'un état infectieux, inflammatoire, hémorragique ou malin.

18.1 Prélèvement

Les liquides biologiques sont des spécimens uniques, parfois difficiles à obtenir. Il ne faut pas rejeter un liquide biologique coagulé, même si la numération cellulaire est inexacte, l'examen microscopique pourra fournir des renseignements très utiles. Un commentaire à ce propos doit accompagner le résultat⁴⁴.

18.1.1 Liquide céphalorachidien (LCR)

Le LCR est prélevé dans 3 à 4 tubes stériles numérotés de façon séquentielle selon l'ordre de prélèvement. Le troisième tube prélevé est utilisé pour l'examen hématologique, parce qu'il est moins susceptible d'être contaminé par les éléments cellulaires issus du traumatisme de la ponction¹⁻⁴⁴.

Note : Les critères de distinction entre un LCR hémorragique causé par une ponction traumatique et une hémorragie sous-arachnoïdienne doivent être décrits dans le cahier des techniques et des procédures.

18.1.2 Liquide synovial et liquide séreux

Pour l'examen hématologique de ces liquides, l'échantillon est prélevé dans un tube contenant, de préférence, l'anticoagulant EDTA.

18.2 Identification de l'échantillon

L'échantillon doit porter une double identification tel que décrit précédemment (*voir la section 6.4*). De plus, les renseignements sur le type de liquide, l'heure et la date du prélèvement doivent se retrouver sur l'échantillon et/ou le formulaire.

Note : Avant de rejeter un liquide biologique, toutes les démarches doivent être entreprises pour obtenir les renseignements pertinents manquants.

18.3 Délais de conservation des échantillons de liquides biologiques

Idéalement, les liquides biologiques devraient être analysés le plus rapidement possible afin de préserver l'intégrité cellulaire maximale. Si un délai est inévitable, l'échantillon doit être conservé à 4 °C.

18.3.1 Liquide céphalorachidien (LCR)

- Effectuer l'analyse du LCR le plus rapidement possible, idéalement, dans les instants qui suivent le prélèvement. Ceci tant pour l'urgence du résultat que pour la détérioration rapide de la qualité du spécimen. Si un délai est inévitable, l'échantillon de LCR doit être conservé à 4 °C¹⁷.

Note : Après deux heures de conservation à la température de la pièce, les leucocytes s'abaissent de 40 %¹. Après deux heures de conservation à 4 °C, les leucocytes s'abaissent de 15 %¹.

18.3.2 Autres liquides

- L'analyse hématologique des liquides biologiques devrait s'effectuer moins d'une heure après le prélèvement¹⁷. Le spécimen devrait être réfrigéré si l'analyse est retardée⁴⁴.

18.4 Considérations techniques

Le laboratoire doit avoir une procédure et un mode opératoire détaillés (*voir la section 8.2*) de chacune des étapes suivantes pour chaque type de liquide biologique.

18.4.1 Examen macroscopique du liquide

La description des différents aspects macroscopiques de chaque type de liquide biologique doit être documentée et la nomenclature standardisée.

18.4.2 Numération des éléments cellulaires

La numération des éléments cellulaires d'un liquide biologique devrait se faire à l'aide d'un hématimètre.

Le mode opératoire de la méthode de numération cellulaire doit préciser s'il y a dilution ou non de l'échantillon et prévoir un guide du taux de dilution pour les liquides hypercellulaires⁴⁴.

Note : Il n'est pas conseillé d'effectuer la numération des éléments cellulaires sur des compteurs électroniques, parce que des particules, présentes dans les liquides, peuvent être comptées par l'analyseur et

fausser les résultats. Toutefois, si cette méthode est utilisée, l'ordre de grandeur cellulaire doit être validé à l'hématimètre.

18.4.3 Confection des frottis

Le mode opératoire de la confection des frottis d'un liquide biologique doit être standardisé de façon à obtenir une couche unicellulaire sur le frottis.

Un frottis dont la concentration cellulaire est trop élevée nuit à l'identification des cellules.

Note : Une lame à 5 gouttes peut servir de lame témoin.

18.4.4 Réactifs

Pour l'identification, la préparation et les conditions de conservation des réactifs, respecter les conditions décrites précédemment dans la section traitant des réactifs. (*Voir la section 10.0.*)

Pour vérifier la qualité des réactifs, une lame témoin sans spécimen permet de distinguer entre une contamination du réactif et la présence réelle de bactéries dans le liquide.

18.4.5 Examen microscopique du frottis

Un protocole de standardisation doit détailler : la méthode d'observation du frottis, l'identification et la quantification des éléments cellulaires. (*Voir la section 13.5.*)

La morphologie des éléments cellulaires des liquides biologiques étant particulière, il est recommandé d'avoir des lames de collection pour l'identification et l'interprétation de ces éléments.

18.4.6 Rédaction du rapport

Il est souhaitable d'établir une terminologie uniforme pour la description des éléments faisant partie du rapport ainsi que pour la nomenclature à utiliser pour les mentionner.

18.5 Contrôle de la qualité de l'examen des liquides biologiques

Plusieurs étapes de l'examen des liquides biologiques demandent jugement et interprétation de la part du technologiste médical. Un processus de formation continue, en cours de pratique, des technologistes médicaux est souhaitable.

Un protocole standardisé de toutes les étapes de l'analyse des liquides biologiques, décrites dans les considérations techniques précédentes, doit uniformiser les manipulations et l'interprétation de cet examen.

18.6 Signification clinique

Il est souhaitable qu'un tableau, disponible pour le personnel, représente les liens entre l'aspect du liquide, les éléments cellulaires observés et les principales significations cliniques qui y sont associées⁴⁴.

19.0 Transmission des résultats

Compétence et jugement vont de pair lorsqu'il s'agit de veiller à ce que le résultat analytique transmis reflète l'état clinique du client dont provient le spécimen et, de plus, à ce que ce résultat soit communiqué dans un délai et selon un mode de transmission approprié.

19.1 Vérification de la validité du résultat

Avant d'émettre un résultat, le technologiste médical devrait :

- Vérifier si les résultats du contrôle de qualité respectent les écarts établis;
- Valider un résultat situé en dehors des valeurs de référence ou qui atteint les valeurs critiques;
- Vérifier, lorsque disponible, la corrélation entre le résultat et les renseignements cliniques, le diagnostic et le traitement du client;
- S'assurer, le cas échéant, de la corrélation entre le résultat et les autres examens de laboratoire;
- Valider un résultat peu plausible et en rechercher la cause (erreurs pré-analytiques : non-respect du volume anticoagulant/sang, hémolyse, contamination par un soluté, transport ou conservation inadéquats, etc.).

Note : Le technologiste médical doit dans tous ces cas faire le suivi approprié, selon les protocoles établis, et réagir dans l'intérêt véritable du client. Cela signifie, entre autres, que les demandes urgentes sont traitées en priorité.

19.1.1 Validation automatique

Une validation semi-automatique requiert que le technologiste médical vérifie et valide chaque résultat avant de le transmettre. Dans un processus de validation automatique, les résultats « normaux » sont validés de façon électronique uniquement, c'est-à-dire que, s'ils sont à l'intérieur des paramètres préétablis, ils sont transmis sans autre intervention.

Un suivi continu du contrôle de qualité est essentiel lorsque la validation des résultats « normaux » est uniquement électronique. Des étapes de sécurité devraient être incluses dans le protocole d'analyse, par exemple :

- La validation d'un même échantillon ne peut être effectuée automatiquement au cours de la même journée;

- Le « *delta check* » du résultat du client sera intégré au contrôle de la qualité lorsque le système informatique le permettra.

19.2 Protocole des valeurs paniques

En plus des valeurs de référence, qui doivent être établies pour chacune des analyses effectuées, le laboratoire doit définir des valeurs paniques, qui indiquent une détérioration ou un état clinique dangereux pour la vie du client.

Une fois ces valeurs déterminées, un protocole détaillé des mesures à prendre doit être établi. Il doit tenir compte de la vérification de la validité du résultat et du mode de transmission du rapport à la personne appropriée.

Le processus doit permettre d'enregistrer, de dater et de parapher les démarches effectuées jusqu'à la transmission finale du résultat au médecin ou au professionnel de la santé assurant le suivi médical du client.

19.3 Mode de transmission des résultats

Plusieurs lois et règlements régissent la transmission des résultats. Mentionnons ceux relatifs à l'accessibilité de l'information et à la confidentialité des renseignements. Pour cette raison, un protocole de transmission des résultats devrait être établi par le laboratoire.

Le technologiste médical est un professionnel qui doit mettre en application les protocoles en respectant son Code de déontologie⁶⁰ ainsi que les lois et les règlements régissant sa profession.

19.4 Conservation des résultats

Le technologiste médical doit conserver les documents selon les politiques établies et les lois en vigueur. (*Voir l'annexe 5.*)

19.5 Protocole de correction d'erreurs sur les rapports

Un protocole de correction d'erreurs sur les rapports doit être suivi par le technologiste médical lorsqu'une erreur dans un résultat transmis est constatée. Ce protocole doit prévoir toutes les étapes nécessaires à la correction finale au dossier du client.

Les erreurs ne doivent, en aucune façon, être effacées ou cachées. La correction doit être clairement indiquée à côté de l'erreur (raturée, mais encore lisible), puis datée et paraphée. Si un nouveau rapport est rédigé, une note doit être inscrite sur le premier rapport mentionnant la correction; cette note doit être datée et paraphée²⁵⁻⁵⁰.

20.0 Gestion de l'information

20.1 Mécanisme d'information du personnel

Un mécanisme formel d'information doit être mis en place afin que toute mise à jour de techniques ou de politiques soit diffusée au personnel concerné.

Il est du devoir du technologiste médical de s'informer et de lire les mises à jour.

Les différents manuels de laboratoire (*voir la section 8.0*) doivent être facilement accessibles au personnel.

20.2 Système informatique

Lorsque la collecte, l'enregistrement et la conservation des données des examens s'effectuent dans un système informatique, le laboratoire devrait établir et mettre en place des procédures pour²⁵ :

- Assurer la formation adéquate du personnel en ce qui a trait au système informatique;
- Attribuer un code d'accès unique à chaque technologiste médical;
- Fournir un répertoire écrit des procédures et des codes informatiques nécessaires à la saisie des données (*voir la section 8.4*);
- Protéger l'intégrité de toutes les données enregistrées;
- Assurer l'entretien adéquat du matériel informatique.

20.3 Conservation des documents et des dossiers de laboratoire

Dans les laboratoires de biologie médicale, un calendrier de conservation doit déterminer les périodes de conservation des documents et des dossiers de laboratoire. Ce calendrier doit respecter les lois et règlements en vigueur.

Vous trouverez, à l'annexe 5, un relevé des délais de conservation recommandés par différents organismes.

Annexe 1

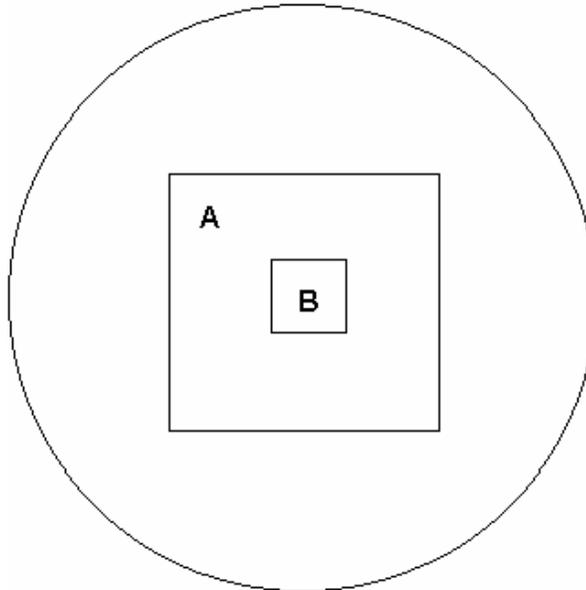
Numération des réticulocytes DISQUE DE MILLER

Le disque de Miller est un disque calibré que l'on place dans l'un des oculaires du microscope. L'utilisation du disque de Miller aide à la numération des réticulocytes en diminuant la surface de décompte des érythrocytes¹.

Le disque de Miller comprend deux carrés. Le carré B mesure 1/9 de la surface du carré A et peut être placé au centre ou dans un coin du carré A.

Dans une zone adéquate du frottis, compter jusqu'à 500 érythrocytes dans le petit carré B et les réticulocytes dans le grand carré A. Un réticulocyte du carré B est compté à la fois comme réticulocyte et comme globule rouge. En principe, étant donné que le carré B équivaut à un neuvième du carré A, on retrouve le nombre de réticulocyte par rapport à 4 500 érythrocytes. Le calcul suivant permet d'exprimer les réticulocytes en pourcentage¹⁻¹⁷:

$$\text{Réticulocytes (\%)} = \frac{\text{Nombre de réticulocytes dans le carré A} \times 100}{\text{Nombre d'érythrocytes dans le carré B} \times 9}$$



NOTE : Si un disque de Miller est utilisé pour la numération microscopique des réticulocytes, la loi des deux côtés doit être respectée (ne pas compter un globule rouge qui touche au côté inférieur ou au côté droit du carré B). Ceci entraînerait un biais significatif entre la numération avec et sans disque de Miller¹³.

Annexe 2

Analyseurs cellulaires

Sources possibles d'erreurs analytiques

PARAMÈTRE	ERREUR ANALYTIQUE	MÉCANISME	CAUSES POSSIBLES
Numération des érythrocytes	Pseudo-augmentation	Autres cellules ou particules comptées	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation importante des leucocytes • Augmentation importante des plaquettes ou plaquettes géantes • Cryofibrinogène • Cryoglobuline
	Pseudo-diminution	Agrégats comptés comme cellule unique	<ul style="list-style-type: none"> • Agglutinines froides • Agglutinations causées par l'EDTA
		Érythrocytes microcytaires ou lysés (ne sont pas comptés)	<ul style="list-style-type: none"> • VGM < 50 fL • Patients avec brûlures graves • Hémolyse in vitro
Numération des leucocytes	Pseudo-leucocytose	Précipitant anormal	<ul style="list-style-type: none"> • Cryoprotéïnémie • Paraprotéïnémie • Filaments de fibrine
		Érythrocytes non lysés	<ul style="list-style-type: none"> • Hémoglobinopathies variées • Agglutinines froides
		Anomalies plaquettaires	<ul style="list-style-type: none"> • Plaquettes en amas ou géantes • Agrégation plaquettaire due à l'EDTA
		Présence d'inclusions intra érythrocytaires	<ul style="list-style-type: none"> • Présence d'érythroblastes • Parasites de la malaria
		« Carry over »	<ul style="list-style-type: none"> • Leucocytose importante du spécimen précédent
	Pseudo-leucopénie	Lyse des leucocytes due à une fragilité augmentée	<ul style="list-style-type: none"> • Artéfact dû à la conservation du spécimen • Leucémie • Urémie • Immunosuppression
Agrégats de leucocytes comptés comme une cellule		<ul style="list-style-type: none"> • Agrégats due à l'EDTA • Agrégats reliés à la présence d'anticorps ou de mucopolysaccharides • Agglutinines froides 	
Hémoglobine	Pseudo-augmentation	Turbidité	<ul style="list-style-type: none"> • Hyperlipidémie • Leucocytose importante • Hémoglobinopathie • Hyperbilirubinémie • Cryoglobulinémie • Paraprotéïnémie
		Interférence à 540 nm	<ul style="list-style-type: none"> • Carboxyhémoglobine
Hémoglobine	Pseudo-diminution	Interférence à 540 nm	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfhémoglobine

PARAMÈTRE	ERREUR ANALYTIQUE	MÉCANISME	CAUSES POSSIBLES
VGM	Pseudo- augmentation	Leucocytes sont comptés et mesurés avec les érythrocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation importante des leucocytes
		Agrégats érythrocytaires	<ul style="list-style-type: none"> • Agglutinines froides • Agglutinations reliées à l'EDTA
		Gonflement des érythrocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Artéfact de conservation • États hyperosmolaires : hyperglycémie et hypernatrémie
	Pseudo- diminution	Artéfact relié à l'instrumentation	<ul style="list-style-type: none"> • Érythrocytes hypochromiques
Particules ou autres cellules comptées		<ul style="list-style-type: none"> • Plaquettes géantes • Cryoglobulinémie • Cryofibrinogénémie 	
Hématocrite technique automatisé	Pseudo- augmentation	Augmentation artificielle du VGM	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation importante des leucocytes. • État hyperosmolaire • Agglutination des érythrocytes
		Augmentation artificielle des érythrocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Cryoglobuline • Cryofibrinogène • Plaquettes géantes
	Pseudo- diminution	Diminution artificielle du VGM	<ul style="list-style-type: none"> • État hypoosmolaire
		Diminution artificielle des érythrocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Hémolyse in vitro • Érythrocytes microcytaires • Agglutinines froides
CGMH	Pseudo- augmentation	Hémoglobine faussement élevée ou hématocrite faussement abaissé	<ul style="list-style-type: none"> • Agglutinines froides • État hypoosmolaire • Hémolyse intravasculaire ou in vitro • Hyperlipidémie
	Pseudo- diminution	Hémoglobine ou VGM faussement abaissé ou hématocrite faussement élevé	<ul style="list-style-type: none"> • État hyperosmolaire
Numération plaquettaire	Pseudo- augmentation	Autres cellules ou particules comptées comme plaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • Inclusions cellulaires (corps de Howell-Jolly, de Pappenheimer, malaria, etc.) • Fragments leucocytaires ou érythrocytaires • Extrême microcytose
	Pseudo- diminution	Anomalies plaquettaires	<ul style="list-style-type: none"> • Agrégation plaquettaire, satellitisme plaquettaire • Plaquettes géantes • Spécimen partiellement coagulé

SOURCES : BAIN, Barbara J. *Blood Cells Practical Guide*, Second Edition, London (Great Britain), Blackwell Science, 1995.
 BICK, Rodger L. et al. *Hematology, Clinical and Laboratory Practice*, Mosby, 1993.
 BRIGDEN, Malcolm L., Bakul I. DALAL. «Cell counter Related Abnormalities», *Laboratory Medicine*, volume 30, no 5, 1999.
 CORNBLEET, Joanne. «Spurious Results from Automated Hematology Cell Counters», *Laboratory Medicine*, volume 14, 509-514, 1983.
 LEHMANN, Craig A. *Saunders manual of clinical laboratory science*, Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1998.

Annexe 3

Vitesse de sédimentation dans certains états cliniques

ÉTATS CLINIQUES	COMMENTAIRES
<p>SÉDIMENTATION AUGMENTÉE</p> <p>Processus inflammatoire</p> <p>Infections aiguës et chroniques</p> <p>Fièvre rhumatismale</p> <p>Infarctus du myocarde</p> <p>Néphrose</p> <p>Tuberculose</p> <p>Myélome multiple</p> <p>Macroglobulinémie de Waldenström</p> <p>Endocardite infectieuse subaiguë</p> <p>Hépatite</p> <p>Menstruation</p> <p>Grossesse</p>	<p>Associé à l'augmentation, dans le plasma, de certaines protéines, en particulier le fibrinogène et les globulines α et β.</p> <p>Après le troisième mois de grossesse</p>
<p>SÉDIMENTATION NORMALE</p> <p>Sphérocytes</p> <p>Drépanocytes</p> <p>Hémoglobinoses C</p> <p>Sphérocytose héréditaire</p> <p>Polyglobulie</p>	<p>S'il y a une quantité importante dans le sang périphérique</p> <p>S'il y a une quantité importante dans le sang périphérique</p>

Extrait de : LOTSPEICH-STEININGER, Cheryl A. *Clinical Hematology, Principles, Procedures, Correlations*, Second Edition, Philadelphia, J.B.Lippincott Co., 1998

Annexe 4

ALGORITHME DE BULL OU MOYENNE FLOTTANTE PONDÉRÉE OU \bar{X}_B

L'algorithme de Bull est une formule statistique basée sur l'utilisation des résultats des patients qui, par le suivi des moyennes des indices érythrocytaires, permet de mettre en évidence des erreurs systémiques et de vérifier l'exactitude des résultats.

Cette formule statistique est basée sur les faits suivants : sur une population de 100 patients, le coefficient de variation de la moyenne des indices érythrocytaires est d'environ 1 %, peu importe la nationalité ou le sexe des patients. Ces indices demeurent stables durant la plupart des maladies, mis à part les cas d'anémies microcytaires ou macrocytaires. Les indices sont insensibles aux erreurs de manipulation ou de dilution du spécimen (exemple : mélange ou quantité sang/anticoagulant inadéquate).

Généralement calculées par le logiciel de l'appareil, les moyennes sont vérifiées à chaque 20 patients. Ensuite, lorsque le calcul de la moyenne flottante pondérée des indices des 20 derniers spécimens analysés se situe en dehors du ± 3 %, (excluant les clientèle pédiatriques et de l'oncologie) pour 2 séries consécutives et pour deux paramètres, des mesures doivent être adoptées pour déterminer le problème et apporter les mesures correctrices qui s'imposent.

Le tableau qui suit présente quelques exemples de problèmes récurrents¹⁻¹⁷⁻²⁶.

Moyenne flottante pondérée des indices érythrocytaires	Problèmes possibles (variations systématiques)
CGMH augmentée et TGMH augmentée	Hémoglobine = variation à la hausse Érythrocytes = variation à la baisse
CGMH diminuée et TGMH diminuée	Hémoglobine = variation à la baisse Érythrocytes = variation à la hausse
VGM augmenté et CGMH diminuée VGM diminué et CGMH augmenté	Hématocrite : variation à la hausse Hématocrite : variation à la baisse
VGM diminué et TGMH diminué VGM augmenté et TGMH augmenté	Érythrocytes : variation à la hausse Érythrocytes : variation à la baisse

La démarche suivante peut permettre d'évaluer le problème et d'apporter les mesures correctrices appropriées¹⁷ :

- Vérifier la clientèle des 20 derniers spécimens;
- Vérifier le calibrage et la précision de l'appareil avec des solutions de contrôle;
- Procéder à une inspection visuelle de l'appareil;
- Apporter les correctifs nécessaires;
- Reprendre l'analyse des échantillons visés par l'alarme de la moyenne flottante pondérée.

Annexe 5

RELEVÉ DES DÉLAIS MINIMAUX DE CONSERVATION DES DOCUMENTS, LAMES ET ÉCHANTILLONS, TELS QUE RECOMMANDÉS PAR DIFFÉRENTS ORGANISMES

Attention : Les délais de conservation prévus aux colonnes OPTMQ et LPSP constituent la réglementation en vigueur. Les références des trois autres colonnes sont présentées **uniquement** à titre d'information.

	OPTMQ ^I C-26, r.175	LPSP ^{II} P-35,r.1	CJMT ^{III}	CAP ^{IV}	SCMT ^V
ÉCHANTILLONS					
Sérums				48 heures	
Liquides biologiques, LCR			30 jours	48 heures	
Échantillon avec EDTA			3 jours		
Échantillon avec citrate			1 journée		
LAMES					
Frottis sanguins				7 jours	
Frottis sanguins anormaux, anomalies courantes			3 mois		
Frottis sanguins anormaux, tels que désignés par le pathologiste			20 ans		
Lames de moelle osseuse		10 ans		10 ans	
DOCUMENTS					
Ordonnances et rapports d'examen	5 ans	2 ans (anatomopathologie : 10 ans)		2 ans	
Résultats d'analyses	5 ans			2 ans	3 ans (non reliés à des transfusions)
Résultats de moelle osseuse	5 ans	10 ans			

	OPTMQ ^I C-26, r.175	LPSP ^{II} P-35,r.1	CJMT ^{III}	CAP ^{IV}	SCMT ^V
Dossiers contenant la signature, les initiales et le code d'identification du personnel			10 ans	10 ans (Banque de sang)	10 ans
Feuilles de travail (pour analyses diagnostiques spécialisées)			5 ans		
DOCUMENTS ET DOSSIERS D'ASSURANCE QUALITÉ					
Dossiers des contrôles de qualité				2 ans	5 ans
Dossiers de contrôle de qualité de l'équipement				2 ans	Selon la durée de vie plus 1 an
Révision des techniques			Durée de la technique		Indéfiniment
Dossier d'entretien de l'équipement			Durée de vie de l'équipement	2 ans	

^I OPTMQ : *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux*, R.R.Q.,c. C-26, r.175. *

^{II} LPSP : *Règlement d'application de la loi sur la protection de la santé publique*, R.R.Q., c. P-35, r.1, art. 138. **Note** : Ce règlement ne s'applique pas aux laboratoires de biologie médicale du secteur public.

^{III} CJMT : WOODWARD, John F. Service de laboratoire régional de Fraser Valley. « Conservation des dossiers de laboratoire », *Canadian Journal of Medical Technology*, volume 53 , 1991, p. 119-121.

^{IV} CAP : College of American Pathologists. (1998)

^V SCMT'99 : Société canadienne de médecine transfusionnelle, 1999.

* Dans le *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux*, le technologiste médical qui exerce dans le secteur public, et qui peut faire inscrire ou inscrire des données relatives au client dans le dossier de l'établissement, n'est pas tenu de se conformer aux délais de conservation de 5 ans. Il doit cependant respecter les délais de conservation prévus au calendrier de conservation de l'établissement.

Annexe 6

ÉLÉMENTS CONNUS OU POTENTIELS D'INTERFÉRENCES DANS LA NUMÉRATION AUTOMATISÉE DES RÉTICULOCYTES

L'exactitude de la numération des réticulocytes peut être altérée par la présence d'éléments qui interfèrent à un niveau du processus analytique de l'analyseur utilisé.

Éléments cellulaires	Inclusions cellulaires	Divers
Agrégation plaquettaire	Corps de Howell-Jolly	Autofluorescence avec porphyrie et certains médicaments
Ponctuations basophiles	Corps de Heinz	Érythrocytes anormaux
Leucocytes et fragments de leucocytes	Corps de Pappenheimer	Paraprotéines
Érythroblastes	Parasites (malaria, babesia)	Agglutinines froides
		Hémolyse

Ce tableau est tiré du NCCLS H44-A, 1997. (Référence n° 13 de ce document)

Annexe 7

Microscope

Ajustement de l'éclairage de Köhler

L'ajustement de Köhler assure un éclairage total et uniforme du champ microscopique⁵⁵ et donne une image claire et précise de l'objet observé.

Étapes d'ajustement de l'éclairage de Köhler¹⁷⁻⁵⁵

1. Allumer le système d'éclairage et régler l'intensité de la source lumineuse à l'aide du rhéostat;
2. Mettre l'objectif à 10 X, placer la lame sur la platine et ajuster l'image en utilisant les boutons de mise au point (mécanisme à crémaillère et vis micrométrique);
3. Fermer le diaphragme iris du condensateur et monter le condensateur à sa position maximale;
4. Fermer le diaphragme de champ;
5. Abaisser la hauteur du condensateur jusqu'à ce que l'image soit bien contrastée et détaillée;
6. Effectuer la mise au point précise de l'image à l'aide des boutons de mise au point;
7. Déplacer le condensateur à l'aide des vis de centrage du condensateur jusqu'à l'alignement de l'axe optique et de l'objectif (si cela s'applique au modèle de microscope);
8. Ouvrir le diaphragme de champ pour que le faisceau lumineux éclaire complètement le champ microscopique;
9. Enlever un oculaire, ajuster l'ouverture du diaphragme du condensateur jusqu'à ce que le faisceau lumineux éclaire approximativement 75 % du champ. Remettre l'oculaire.
10. Vous avez effectué l'ajustement de l'éclairage de Köhler. Par la suite, pour ajuster l'intensité de la lumière, utiliser seulement le bouton de réglage du transformateur.

BIBLIOGRAPHIE

1. L'ITALIEN, Roselyne, et Hélène LORD DUBÉ. *Hématologie*, deuxième édition, Sainte-Foy (Québec), Le Griffon d'argile, 1998, 434 p.
2. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Evacuated Tubes and Additives for Blood Specimen Collection*, Fourth Edition, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H1-A4, 1996, 34 p.
3. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins de diagnostic : Règles normatives*, cinquième édition, Montréal, 1999, 39 p.
4. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction capillaire pour fins d'analyse : Règles normatives*, deuxième édition, Montréal, 1999, 34 p.
5. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Transport et manipulation de produits biologiques et de matières infectieuses : Règles normatives*, Montréal, 1997, 35 p.
6. BAIN, Barbara J. *Blood Cells a Practical Guide*, Second Edition, London (Great Britain), Blackwell Science, 1995.
7. INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY. « Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for Ethylenediaminetetraacetic Acid Anticoagulation of Blood for Blood Cell Counting and Sizing », *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 100, n° 4, October 1993, p.371-372.
8. PHILLIPS, J. et al. « Performance of K₂EDTA – vs K₃EDTA – collected blood specimens on various hematology analyzers », *Laboratory Hematology* 4 : 17-20, 1998.
9. BRUNSON, D. et al. « Comparing hematology anticoagulants : K₂EDTA vs. K₃EDTA », *Laboratory Hematology* 1 : 112-119, 1995.
10. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Normes de pratique du technologiste médical*, Montréal, mars 1989, 12 p.
11. SOCIÉTÉ CANADIENNE DE SCIENCE DE LABORATOIRE MÉDICAL. *Normes de pratique de la SCSLM.*, approuvé, février 1999.
12. BAER, Daniel M. « Platelet clumps in EDTA samples : Tips from the clinical experts », *Medical Laboratory Observer, Medical Economics at Montvale*, NJ, vol. 31, n° 8, August 1999, p.8.
13. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for Reticulocyte Counting (Flow Cytometry and Supravital Dyes)*, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, H44-A, 1997, 31 p.

14. FRIEDMAN, Ellen W. « Reticulocyte counts : How to use them, what they mean », *Diagnostic Medicine*, July 1984, p. 29-33.
15. SAVAGE, Richard A. *Clinical practice in reticulocyte testing*, College of American Pathologists, Summing Up, Spring 1996.
16. CEMBROWSKI, G. S., P.J. CORNBLEET. *Calibration verification in hematology : what's necessary and what's not*, College of American Pathologists, Summing Up, Spring 1996.
17. STIENE-MARTIN E., Anne, Cheryl A. LOTSPEICH-STEININGER et John A. KOEPKE. *Clinical Hematology, Principles, Procedures, Correlations*, Second Edition, Philadelphia, J.B.Lippincott Co., 1998, 817 p.
18. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Normes de pratique du technologiste médical*, Montréal, 1989, 12 p.
19. LALUMIÈRE, Gaston. *Le contrôle de qualité, cours de perfectionnement*, OPTMQ, novembre 1995.
20. BRIGDEN, Malcolm L. et I. Dalal BAKUL. « Cell counter Related Abnormalities », *Laboratory Medicine*, vol. 30, n° 5, May 1999, p. 325-334.
21. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Clinical Laboratory Technical Procedure Manuals*, Third Edition, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, GP2-A3, 1996, 92 p.
22. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Reference and Selected Procedure for the Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) Test*, Fourth Edition, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H2-A4, 2000, 20 p.
23. COLLEGE OF PHYSICIANS AND SURGEONS OF ALBERTA. *Extended Laboratory Standards and Guidelines*, January, 1998.
24. MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SERVICES SOCIAUX. *Manipulation et transport des spécimens biologiques : normes et recommandations, laboratoires de biologie médicale*, Bibliothèque nationale du Québec, 1997, 183 p.
25. ISO, ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *Management de la qualité dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale*. Projet de norme internationale, ISO/DIS 15189, Genève (Suisse), 1999.
26. BICK, Rodger L., M.D. *Hematology, Clinical and Laboratory Practice*. Volume One, St. Louis, Missouri, Mosby, 1993.
27. CONSTANTINO, Benie T, ART, SH. « Erythrocyte Sedimentation Rate : What Technologists Need to Know », *Canadian Journal of Medical Technology*, vol. 56, n° 3, 1994, p. 161-169.
28. CONSTANTINO, Benie T. et al. « White blood cell and platelet estimation methods », *Canadian Journal of Medical Technology*, vol. 56, 1994, p. 224-228.

29. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Reference Leukocyte Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H20-A, 1992, 55 p.
30. OGRAM, Dawn M. *L'appréciation de la qualité dans les services de laboratoire*; AHQ, Association des hôpitaux du Québec., 1987, 123 p.
31. CHAPMAN, Margaret. « Hematology Analyzers Offer New Technology and User-Friendliness »; *Laboratory Medicine*, vol. 31, n° 3, March 2000, p. 146-150.
32. SANTÉ CANADA, DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ. *Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les établissements de santé*; volume 25S4, 1999.
33. *Règlement sur les déchets biomédicaux.*, R.R.Q., Q-2, r.3.001.
34. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Laboratory Diagnosis of Blood-borne Parasitic Diseases*, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, M15-A, vol. 20, n° 12, 2000, 40 p.
35. AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS. *Technical manual*; Arlington Virginia, 13th Edition, 1999, 798 p.
36. YOUNG, Donald S., M.D., Ph.D. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, American Association for Clinical Chemistry, Second Edition, Washington DC, 1997.
37. SANTÉ CANADA. Relevé des maladies transmissibles au Canada. *Babésiose post-transfusionnelle en Ontario : premier cas signalé au Canada*, vol. 26-02, 15 janvier 2000.
38. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Calibration and Quality Control of Automated Hematology Analyzers*, Proposed Guideline, Pennsylvania, NCCLS, H38-P, 1999, 32 p.
39. FELD, Ronald D., Marian SCHWABBAUER et John D. OLSON. *The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) and the Physician's Office Laboratory : Interpretive Guidelines : Laboratories*, University of Iowa., 1992-1999.
40. BAER, Daniel M.. « Patient records, What to save, how to save it, how long to save it », *Médical Laboratory Observer, Medical Economics at Montvale, NJ*, vol. 25, n° 2, February 1993, p. 22-27.
41. WOODWARD, John F. « Conservation des dossiers de laboratoire : Service de laboratoire régional de Fraser Valley ». *Canadian Journal of Medical Technology*, vol. 53, 1991, p. 119-121.
42. *Loi sur les archives*, L.R.Q., c. A-21.1, article 7.
43. *Règlement sur l'organisation et l'administration des établissements*, R.R.Q., S-5, r. 3.01, article 58.

-
44. DESCHÈNES-DION, Suzanne, T.M. Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal. *Les liquides biologiques. Examen hématologique des liquides céphalorachidien, pleural, péritonéal, péricardique, synovial*, novembre 1999.
 45. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue* : Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, M29-A, 1997, 90 p.
 46. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Procedure for the determination of packed cell volume by the microhematocrit method*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H7-A, 1985, 16 p.
 47. SIMMONS, Arthur. *Technical Hematology*, Third Edition, Philadelphia (Toronto), J.B. Lippincott Company, 1980, 574 p.
 48. KOEPKE, John A. M.D. « Update on Reticulocyte Counting », *Laboratory Medicine*, vol. 30, n° 5, May 1999, p. 339-343.
 49. LORD, André D. B.Sc., et Guy LETELLIER Ph.D. *Guide des épreuves diagnostiques*, Décarie Éditeur inc., 1993, 528 p.
 50. FRÉCHETTE, Jean-Guy, docteur en droit. *Vision juridique du dossier de santé (problèmes quotidiens)*, L'Association québécoise des archivistes médicales, Rock Forest, 1990, 467 p.
 51. ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC. *Recueil de règles de conservation des documents des établissements de santé et de services sociaux du Québec*, Association des hôpitaux du Québec, Montréal, 2000.
 52. DESCHÈNES-DION, Suzanne, T.M. Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal. *Examen de la moelle osseuse*, juin 1999.
 53. WINTROBE, M.M. & al. *Clinical Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1974.
 54. MCCALL, Ruth E., et Cathy M. TANKERSLEY. *Phlebotomy Essentials*. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1993, 291 p.
 55. LALIBERTÉ, Alain. *Techniques instrumentales en biologie médicale, tome 1*, Teknix, CEGEP de Saint-Hyacinthe, 1987, 205 p.
 56. BECTON DICKINSON. « Vacutainer systems. Microtainer Brand Tubes (package insert 2001) », Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, New Jersey.
 57. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture*, Fourth Edition, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H4-A4, 1999, 46 p.
 58. LEHMANN, Craig A. *Saunders manual of Clinical Laboratory Science*, Pennsylvania, W.B. Saunders Company, 1998.

59. LIBMAN, Michael et al. *Un atelier sur la malaria*, Centre des maladies tropicales de l'Université McGill en collaboration avec le L.S.P.Q., octobre 1999.
60. *Code de déontologie des membres de l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec*, R.R.Q., c C-26., r.168.3.
61. SHEMATEK, Gene, et Wayne WOOD. *La sécurité au laboratoire. Directives de la SCTL*; quatrième édition, Société Canadienne des technologistes de laboratoire, 1996, 63 p.
62. CORNBLEET, Joanne. « Spurious Results from Automated Hematology Cell Counters », *Laboratory Medicine*, vol. 14, 1983, p. 509-514.
63. BROWN, Barbara A. *Hematology : Principles and Procedures*, Sixth Edition, Pennsylvania, Lea & Febiger, 1993.
64. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *A Quality System Model for Health Care*, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, GP26-A, 1999, 70 p.
65. *Règlement d'application de la loi sur la protection de la santé publique*, R.R.Q., c. P-35, r.1, article 138.
66. RODAK, Bernadette F. *Diagnostic Hematology*. Pennsylvania, W.B.Saunders Company, 1995.

