

**LES EXAMENS
DE LABORATOIRE**

**D. ALAGILLE, J. COLOMBANI, J. DAUSSET,
J.M. FINE et F. JOSSO**

**TECHNIQUES
EN
HÉMATOLOGIE**

FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES

LES EXAMENS DE LABORATOIRE

TECHNIQUES EN HÉMATOLOGIE

par D. ALAGILLE, F. JOSSO, J. M. FINE et J. COLOMBANI

FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES

20, rue de Vaugirard
75-PARIS 6^e

Droits de traduction, de reproduction et d'adaptation
réservés pour tous pays.
© 1972 by FLAMMARION,
Printed in France.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
CHAPITRE PREMIER. — Techniques hématologiques diverses	15
NUMÉRATION DES HÉMATIES	15
NUMÉRATION DES LEUCOCYTES	19
NUMÉRATION DES PLAQUETTES.....	22
NUMÉRATION « ÉLECTRONIQUE »	25
Méthode et appareil de Crosland et Taylor	25
Méthode dite du « Coulter »	25
Description. Fonctionnement de l'appareil	26
Présentation	28
Étalonnage de l'appareil	29
Techniques de comptage des globules rouges et blancs	29
Matériel. Prélèvement du sang	30
Mise en suspension. Comptage des globules rouges	31
Comptage des leucocytes. Causes d'erreurs	32
Avantages de l'appareil	33
DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE	34
Méthodes colorimétriques	34
Méthode de Tallquist	34
Méthode de Gowers	34
Technique de Sahli	34
Colorimètre	35
Méthodes photométriques	35
CONFECTION ET EXAMEN DES FROTTIS DE SANG	39
Confection des frottis	39
Coloration panoptique des frottis	40
Examen des frottis	41
Appréciation de leur qualité	41
Examen proprement dit	41
Principes généraux. Renseignements cytologiques	41
Établissement de la formule leucocytaire	42
Numération des leucocytes en nombre absolu	44
Valeur de l'examen des frottis de sang	46
CALCUL DE L'HÉMOGLOBINE CORPUSCULAIRE MOYENNE (HCM) ET DE LA CONCENTRATION CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HÉMOGLOBINE (CCMH)	47
Hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM)	47
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)	48

NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES	50
DÉTERMINATION DU VOLUME MOYEN DES HÉMATIES	52
MESURE DU DIAMÈTRE MOYEN DES HÉMATIES	54
Mesure directe. Courbe de Price-Jones.....	54
Méthode diffractométrique	54
COLORATION ET RECHERCHE DES CORPS DE HEINZ	57
Recherche directe des corps de Heinz	57
Recherche après sensibilisation	58
HÉMATOCRITE.....	60
ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE DES HÉMATIES AUX SOLUTIONS HYPOTONIQUES (résistance osmotique) ..	62
ÉPREUVE D'AUTO-HÉMOLYSE DES HÉMATIES	67
ÉTUDE DE LA FALCIFORMATION DES HÉMATIES	71
Cas particulier des homozygotes	72
ÉTUDE DU PHÉNOMÈNE DES ROULEAUX	73
ÉTUDE DE LA SÉDIMENTATION DES ÉRYTHROCYTES	74
ÉTABLISSEMENT DE LA FORMULE D'ARNETH	77
NUMÉRATION DES ÉOSINOPHILES EN NOMBRE ABSOLU	79
MYÉLOGRAMME	81
Prélèvement	81
Préparation et examen de la moelle	82
COLORATION DES SIDÉROBLASTES	86
BIOPSIE DE MOELLE	88
Technique de prélèvement	88
Difficultés, dangers, insuffisances de la biopsie de moelle.....	91
SPLÉNOGRAMME	94
ADÉNOGRAMME.....	97
Prélèvement par ponction ganglionnaire	97
Adénogramme au cours d'une biopsie	98
 CHAPITRE II. — Exploration de l'hémostase	 101
INTRODUCTION	102
Physiologie de l'hémostase	102
<i>L'hémostase primaire</i>	102
Phénomènes vasculaires	102
Formation du thrombus plaquettaire	102

<i>La coagulation plasmatique</i>	103
Formation de la thrombine	104
Formation du caillot	106
Inhibiteurs physiologiques de la coagulation	106
<i>La post-coagulation</i>	107
Propriétés des facteurs de l'hémostase	108
Plaquettes sanguines	108
Facteurs tissulaires	108
Protéines plasmatiques de la coagulation	108
Calcium ionisé	110
Principes généraux des méthodes d'exploration de l'hémostase	110
Exploration de l'hémostase primaire	110
Exploration de la coagulation	111
Exploration globale de la coagulation	112
Exploration semi-analytique de la coagulation	112
Dosages spécifiques des facteurs plasmatiques de la coagulation	114
Exploration du système fibrinolytique	116
Exploration globale	116
Exploration analytique	117
MÉTHODES	119
Matériel et réactifs	119
Matériel	119
Appareils. Pipettes	119
Verrerie	120
Produits chimiques	121
Solutions tampons	121
Décalkification du plasma	122
Recalcification du plasma	122
Agents adsorbants	123
Réactifs	124
Plasma humain dépourvu de facteur V	124
Plasma « adsorbé »	125
Sérum humain dépourvu de prothrombine	125
Réactif de dosage de la prothrombine	126
Plasma de bœuf dépourvu des facteurs VII et X	126
Thromboplastine cérébrale	127
Céphaline	128
Venin de vipère Russell (Stypven)	130
Fraction plasmatique riche en facteur V	130
Fibrinogène	131
Thrombine	133
Reptilase	134
Réactifs divers	135
Indications techniques générales	136
Prélèvement sanguin pour étude de l'hémostase	136
Traitement et conservation des échantillons	137
Exécution des tests de coagulation	138
Tests de l'hémostase	141
Exploration de l'hémostase primaire	141
Mesure du temps de saignement	141
Méthode de Duke	141
Méthode d'Ivy	142
Mesure de la résistance capillaire	143

Numération des plaquettes (Méthode de Piette)	144
Etude de l'adhésivité des plaquettes in vivo (test de Borchgrevink)	145
Epreuves diverses d'étude de plaquettes	146
<i>Exploration de la coagulation</i>	147
1. <i>Exploration globale de la coagulation</i>	147
Temps de coagulation. Observation de la rétraction du caillot	147
Temps de recalcification du plasma (Temps de Howell)	149
Test de tolérance à l'héparine in vitro	150
Thromboélastographie	153
2. <i>Exploration semi-analytique de la coagulation</i>	156
Temps de céphaline	156
Temps de céphaline-kaolin	157
Temps de Quick	158
Temps de Stypven	160
Autres méthodes d'exploration semi-analytique du système extrinsèque	161
Temps de thrombine	162
Temps de Reptilase	163
Mesure de la consommation de la prothrombine au cours de la coagulation	164
Test d'activité plaquettaire du sérum (A.P.S.)	165
Test d'activation par le contact	167
Test de génération de prothrombinase	169
Test de Hicks et Pitney	172
Test de génération de thrombine	172
Recherche d'un anticoagulant circulant	173
Recherche d'un anticoagulant circulant chez un hémophile	174
3. <i>Dosage des facteurs plasmatiques de la coagulation</i>	175
Dosage du fibrinogène	175
Dosage du fibrinogène par une méthode pondérale	176
Dosage du fibrinogène en microméthode par précipitation par la chaleur	177
Recherche et dosage du facteur XIII (Facteur stabilisant de la fibrine)	178
Recherche d'un déficit total en facteur XIII	179
Dosage du facteur XIII	180
Estimation semi-quantitative de l'activité du facteur XIII (Test de tolérance au monoiodacétate)	181
Dosage spécifique des facteurs du « complexe prothrombique » facteur II, complexe des facteurs VII et X, facteur V	182
Dosage spécifique du facteur X	184
Dosage de la prothrombine facteur (II) par une méthode en deux temps	185
Dosage spécifique des facteurs anti-hémophiliques et des facteurs du système « contact » : facteurs VIII, IX, XI et XII	186
Dosage des facteurs anti-hémophiliques par une méthode en deux temps	188
Neutralisation de l'héparine. Index de protamine	190
<i>Exploration du système fibrinolytique</i>	192
Etude du système fibrinolytique sur les euglobulines du plasma	192
Isolement des euglobulines	192
Lyse du caillot des euglobulines	193
Etude de l'action des euglobulines sur plaques de fibrine	195
Autres tests d'exploration du système fibrinolytique	196
<i>APPLICATIONS CLINIQUES</i>	197
Conduite de l'exploration de l'hémostase	197
Examen systématique	197
Examen orienté	198

Syndromes biologiques réalisés par les troubles de l'hémostase	200
<i>Troubles de l'hémostase primaire</i>	200
<i>Déficits congénitaux en un facteur plasmatique de la coagulation</i>	200
<i>Troubles acquis de la coagulation</i>	201
<i>Troubles de l'hémostase et pathologie générale</i>	203
Surveillance biologique des traitements anticoagulants et thrombolytiques	205
<i>Traitements anticoagulants</i>	205
<i>Traitement thrombolytique</i>	206
 CHAPITRE III. — Immunologie des éléments figurés	211
IMMUNOLOGIE DES GLOBULES ROUGES	211
Matériel et réactifs utilisés en immuno-hématologie	211
<i>Matériel</i>	211
<i>Réactifs</i>	212
Groupes sanguins A B O	216
<i>Détermination des groupes A B O</i>	217
<i>Détermination des sous-groupes de l'antigène A</i>	219
<i>Causes d'erreurs dans la détermination des groupes sanguins A B O</i>	221
Titrage des agglutinines anti-A et anti-B	223
Recherche et titrage des hémolysines anti-A et anti-B	224
Recherche et titrage des substances de groupes sanguins A B O	226
Détermination des groupes sanguins du système MN	228
Le système Rhésus	229
<i>Détermination du facteur Rhésus standard (antigène D)</i>	231
<i>Déterminations des antigènes C et E</i>	233
<i>Anticorps du système Rhésus</i>	234
Test de Coombs	238
 TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES LEUCOCYTAIRES ET PLAQUETTAIRES	243
Préparations, réactifs et appareils utilisés pour les tests leucocytaires et plaquettaires	246
<i>Annexe 1. Technique du siliconage</i>	246
<i>Annexe 2. Préparation de la solution de dextran spécial à 5 p. 100</i>	246
<i>Annexe 3. Formule pour le calcul de l'accélération en G</i>	246
<i>Annexe 4. Solutions anticoagulantes d'EDTA-Na₂</i>	247
<i>Annexe 5. Soluté salé isotonique</i>	247
<i>Annexe 6. Solution anticoagulante ACD</i>	247
<i>Annexe 7. Soluté salé isotonique tamponné au Véronal</i>	247
<i>Annexe 8. Conservation à — 60 °C</i>	247
<i>Annexe 9. Agitateur de Kline et plaques à godets concaves</i>	247
Techniques de recherche des leuco-agglutinines	248
Technique de recherche des anticorps lymphocytotoxiques	251
Technique de thrombo-agglutination à 37 °C	255
Technique de fixation du complément sur antigène plaquettaire	257
Technique de recherche des auto-anticorps antileucocytaires et/ou plaquettaires par le test direct de consommation de l'antiglobuline	260
Techniques de recherche d'un anticorps allergique antileucocytaire ou antiplaquettaire ...	264
Technique de recherche des anticorps antileucocytaires et/ou plaquettaires par le test indirect de consommation de l'antiglobuline	266

LES EXAMENS DE LABORATOIRE

TECHNIQUES EN HÉMATOLOGIE

LES EXAMENS DE LABORATOIRE

Série d'ouvrages de techniques de biologie clinique.

Secrétaire de rédaction : Professeur agrégé Charles Sachs.

Techniques en allergie par R. Wolffromm et collaborateurs.

Techniques en bactériologie (trois fascicules) par G.-L. Daguet et collaborateurs.

- I. Aérobie.
- II. Anaérobies. Mycobactéries. Virologie.
- III. Sérologie bactérienne. Antibiotiques en bactériologie médicale.

Techniques en hématologie par D. Alagille, F. Josso et collaborateurs.

Techniques en immunologie par P. Pillot et P. Peltier.

Techniques en parasitologie et en mycologie par Y.-J. Golvan, E. Drouhet et collaborateurs.

Techniques microscopiques par C. Nézelof, N. Hinglais, P. Galle et R. Hellio.

LES EXAMENS DE LABORATOIRE

TECHNIQUES EN HÉMATOLOGIE

par D. ALAGILLE, F. JOSSO, J. M. FINE et J. COLOMBANI

FLAMMARION MÉDECINE-SCIENCES

20, rue de Vaugirard
75-PARIS 6^e

Droits de traduction, de reproduction et d'adaptation
réservés pour tous pays.

© 1972 by FLAMMARION,
Printed in France.

Ont collaboré à la rédaction de cet ouvrage :

Daniel ALAGILLE

Professeur de clinique de pédiatrie, chef de service à l'Hôpital Parrot-Bicêtre.

Renée BÉCART-MICHEL

Assistant des hôpitaux. Laboratoire d'immunologie, Pitié-Salpêtrière.

Jacques-Louis BINET

Maître de conférence agrégé, Médecin des hôpitaux de Paris. Laboratoire d'hématologie, Salpêtrière.

Jacques COLOMBANI

Maître de conférences agrégé d'immuno-hématologie, biologiste des Hôpitaux de Paris.

Jean DAUSSET

Professeur d'immuno-hématologie, biologiste des Hôpitaux de Paris.

Jean-M. FINE

Chef de service au Centre National de Transfusion Sanguine.

J. HORS

Assistant à l'UER d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, assistant de Biologie des hôpitaux de Paris.

François JOSSE

Maître de conférences agrégé, biologiste du CHU Necker-Enfants Malades.

Odette PROU-WARTLELLE

Assistante technique, Centre National de Transfusion Sanguine.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	13
CHAPITRE PREMIER. — Techniques hématologiques diverses	15
NUMÉRATION DES HÉMATIES	15
NUMÉRATION DES LEUCOCYTES	19
NUMÉRATION DES PLAQUETTES	22
NUMÉRATION « ÉLECTRONIQUE »	25
Méthode et appareil de Crosland et Taylor	25
Méthode dite du « Coulter »	25
Description. Fonctionnement de l'appareil	26
Présentation	28
Étalonnage de l'appareil	29
Techniques de comptage des globules rouges et blancs	29
Matériel. Prélèvement du sang	30
Mise en suspension. Comptage des globules rouges	31
Comptage des leucocytes. Causes d'erreurs	32
Avantages de l'appareil	33
DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE	34
Méthodes colorimétriques	34
Méthode de Tallquist	34
Méthode de Gowers	34
Technique de Sahli	34
Colorimètre	35
Méthodes photométriques	35
CONFECTION ET EXAMEN DES FROTTIS DE SANG	39
Confection des frottis	39
Coloration panoptique des frottis	40
Examen des frottis	41
Appréciation de leur qualité	41
Examen proprement dit	41
Principes généraux. Renseignements cytologiques	41
Établissement de la formule leucocytaire	42
Numération des leucocytes en nombre absolu	44
Valeur de l'examen des frottis de sang	46
CALCUL DE L'HÉMOGLOBINE CORPUSCULAIRE MOYENNE (HCM) ET DE LA CONCENTRATION CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HÉMOGLOBINE (CCMH)	47
Hémoglobine corpusculaire moyenne (HCM)	47
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)	48

NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES	50
DÉTERMINATION DU VOLUME MOYEN DES HÉMATIES	52
MESURE DU DIAMÈTRE MOYEN DES HÉMATIES	54
Mesure directe. Courbe de Price-Jones	54
Méthode diffractométrique	54
COLORATION ET RECHERCHE DES CORPS DE HEINZ	57
Recherche directe des corps de Heinz	57
Recherche après sensibilisation	58
HÉMATOCRITE	60
ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE DES HÉMATIES AUX SOLUTIONS HYPOTONIQUES (résistance osmotique) ..	62
ÉPREUVE D'AUTO-HÉMOLYSE DES HÉMATIES	67
ÉTUDE DE LA FALCIFORMATION DES HÉMATIES	71
Cas particulier des homozygotes	72
ÉTUDE DU PHÉNOMÈNE DES ROULEAUX	73
ÉTUDE DE LA SÉDIMENTATION DES ÉRYTHROCYTES	74
ÉTABLISSEMENT DE LA FORMULE D'ARNETH	77
NUMÉRATION DES ÉOSINOPHILES EN NOMBRE ABSOLU	79
MYÉLOGRAMME	81
Prélèvement	81
Préparation et examen de la moelle	82
COLORATION DES SIDÉROBLASTES	86
BIOPSIE DE MOELLE	88
Technique de prélèvement	88
Difficultés, dangers, insuffisances de la biopsie de moelle	91
SPLÉNOGRAMME	94
ADÉNOGRAMME	97
Prélèvement par ponction ganglionnaire	97
Adénogramme au cours d'une biopsie	98
 CHAPITRE II. — Exploration de l'hémostase	 101
INTRODUCTION	102
Physiologie de l'hémostase	102
<i>L'hémostase primaire</i>	102
Phénomènes vasculaires	102
Formation du thrombus plaquettaire	102

<i>La coagulation plasmatique</i>	103
Formation de la thrombine	104
Formation du caillot	106
Inhibiteurs physiologiques de la coagulation	106
<i>La post-coagulation</i>	107
Propriétés des facteurs de l'hémostase	108
Plaquettes sanguines	108
Facteurs tissulaires	108
Protéines plasmatiques de la coagulation	108
Calcium ionisé	110
Principes généraux des méthodes d'exploration de l'hémostase	110
Exploration de l'hémostase primaire	110
Exploration de la coagulation	111
Exploration globale de la coagulation	112
Exploration semi-analytique de la coagulation	112
Dosages spécifiques des facteurs plasmatiques de la coagulation	114
Exploration du système fibrinolytique	116
Exploration globale	116
Exploration analytique	117
MÉTHODES	119
Matériel et réactifs	119
Matériel	119
Appareils. Pipettes	119
Verrerie	120
Produits chimiques	121
Solutions tampons	121
Décalcification du plasma	122
Recalcification du plasma	122
Agents adsorbants	123
Réactifs	124
Plasma humain dépourvu de facteur V	124
Plasma « adsorbé »	125
Sérum humain dépourvu de prothrombine	125
Réactif de dosage de la prothrombine	126
Plasma de bœuf dépourvu des facteurs VII et X	126
Thromboplastine cérébrale	127
Céphaline	128
Venin de vipère Russell (Stypven)	130
Fraction plasmatique riche en facteur V	130
Fibrinogène	131
Thrombine	133
Reptilase	134
Réactifs divers	135
Indications techniques générales	136
Prélèvement sanguin pour étude de l'hémostase	136
Traitement et conservation des échantillons	137
Exécution des tests de coagulation	138
Tests de l'hémostase	141
Exploration de l'hémostase primaire	141
Mesure du temps de saignement	141
Méthode de Duke	141
Méthode d'Ivy	142
Mesure de la résistance capillaire	143