

Comparaison des numérations plaquettaires sur anticoagulants à base d'acide éthylène-diamine-tétra-acétique et de citrate trisodique au Burkina Faso

Comparison of platelet counts performed on anticoagulants based on ethylene-diamine-tetra-acetic acid and trisodium citrate in Burkina Faso

Salam Sawadogo^{1,2*},
Tondia Nicole Irénée Sanon³,
Koumpingnin Nebie^{1,2},
Donatien Kima³,
Tieba Millogo⁴,
Myriam Nikiema/Minougou⁵,
Aminata Minougou/Ouattara⁶,
Césaire Dianda³,
Eléonore Kafando^{1,3}

1 Laboratoire d'hématologie,
Université Joseph KI-ZERBO, 01
BP 7021 Ouagadougou 01,
Burkina Faso

2 Centre national de transfusion
sanguine, 03 BP 7253 Ouagadougou
03, Burkina Faso

3 Centre hospitalier universitaire
pédiatrique Charles de Gaulles,
Ouagadougou, Burkina Faso

4 Institut Africain de Santé Publique,
12 BP 199 Ouagadougou,
Burkina Faso

5 Centre hospitalier Universitaire
Yalgado Ouedraogo, Ouagadougou,
Burkina Faso

6 Centre hospitalier régional de
Ziniaré, Burkina Faso

Reçu le 26 Décembre 2021 accepté le
11 Mars 2022

Auteur Correspondant :
Dr Salam Sawadogo

Adresse :
Laboratoire d'hématologie, Université
Joseph KI-ZERBO, 01 BP 7021
Ouagadougou 01, Burkina Faso

Courriel:
salemserin@hotmail.com

[http : //www.rtbc.org.tn](http://www.rtbc.org.tn)

Résumé :

Introduction :

La numération des plaquettes sur sang total prélevé sur tube EDTA peut être entachée de fausses thrombopénies. Aussi, l'on a souvent recours aux anticoagulants à base de citrate de sodium. Toutefois, il existe très peu de données sur la fiabilité du compte des plaquettes sur ce type d'anticoagulant en Afrique Sub-Saharienne. Notre travail visait à comparer les numérations plaquettaires tubes EDTA et citraté au laboratoire d'hématologie du Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulles (CHUP-CDG).

Matériel et Méthodes :

Il s'agissait d'une étude transversale conduite entre novembre et décembre 2020 qui a porté sur les hémogrammes de 124 patients réalisés au sein du laboratoire. Pour chaque patient, deux hémogrammes (Tube EDTA et tube citraté) ont été réalisés. Un facteur correctif de +10% a été appliqué à la numération sur tube citraté. Le pourcentage de la différence entre les deux numérations ainsi qu'une analyse du graphique des différences de Bland et Altman ont été utilisés pour évaluer la concordance entre les deux mesures.

Résultats :

Au total 124 paires d'échantillon ont été incluses. Une thrombopénie a été notée dans 16,1% des échantillons EDTA et 12,9% des échantillons sur tubes au citrate. Le nombre médian de plaquettes était de 335 Giga/L sur tube EDTA et 310 Giga/L sur tube citraté. Le pourcentage moyen de la différence entre les deux mesures était de 17,54%. Le biais constant moyen entre les deux mesures était de -19,6 Giga/L (IC 95% [-41,2 ; 1,99]). Ce biais n'était pas significatif et était inférieur au seuil d'acceptabilité clinique de ± 20 Giga/L fixé. Les limites de concordance supérieure et inférieure étaient respectivement de 218,5 et -257,7 Giga/L avec un taux de concordance entre les deux mesures de 93,5% et un coefficient de concordance (de Lin) de 0,63.

Conclusion :

Il existe une différence entre les mesures des plaquettes sur tubes EDTA et citratés en raison d'un effet de dilution et d'un effet matrice. Aussi, l'interprétation des résultats doit se faire en parallèle et la décision clinique fondée sur les caractéristiques cliniques du patient, dans une collaboration clinicien-biologiste.

Mots-clés : Numération des plaquettes, Pseudo-thrombopénie, EDT, Citrate trisodique, Effet matrice

Abstract :

Introduction :

The platelet count performed on EDTA-tube may be affected by false thrombocytopenia. Also, anticoagulants containing citrate are sometimes used to bypass this issue. However, there is scarce data on the reliability of the platelet count on citrate anticoagulant sample in sub-Saharan Africa. Our work aimed at comparing platelet counts obtained from EDTA and citrate tubes at the hematology laboratory of the "Charles de Gaulles Pediatric University Hospital.

Material and methods:

This was a cross-sectional study conducted between November and December 2020 which included hemograms of 124 patients performed in the laboratory. For each patient, two hemograms (EDTA and citrate tubes) were performed. A corrective factor of +10% was applied to the count obtained on the citrate tube. The percentage difference between the citrated versus EDTA tube as well as a Bland and Altman difference plot analysis were used to assess the agreement between the two measures.

Results:

A total of 124 pairs of samples were included. Thrombocytopenia was noted in 16.1% of EDTA samples and 12.9% of citrate tubes. The median number of platelets was 335 Giga/L for EDTA tubes versus 310 Giga/L for citrate ones. The median percentage difference, between the two measurements, was 17.54%. Also, the mean constant bias between them was -19.6 Giga/L (95% CI [-41.2; 1.99]). This bias was not significant and was below the clinical acceptability threshold of ± 20 Giga/L. The upper and lower limits of agreement were 218.5 and -257.7 Giga/L, respectively, with a total agreement rate between the two measurements of 93.5% and a coefficient of agreement (Lin's) of 0.63.

Conclusion :

There is a difference between platelet counts performed on EDTA and citrate tube due to both dilution and matrix effects. Also, the interpretation of the results must be done in parallel and the clinical decision based on the clinical characteristics of the patient, in a collaboration between the clinician and the biologist.

Keywords : Blood platelet count, Pseudo-thrombocytopenia, EDTA, Trisodium citrate, Matrix effect

INTRODUCTION

L'hémogramme est un examen biologique courant en pratique clinique qui permet une orientation diagnostique dans plusieurs situations pathologiques. Le nombre des plaquettes, est utilisé en première intention pour l'évaluation du risque hémorragique. Aussi, la fiabilité et l'exactitude des résultats de ce paramètre sont essentiels pour une prise en charge adaptée des patients. De nos jours, la numération des plaquettes est faite à l'aide d'automates d'hématologie cellulaire utilisant plusieurs techniques de mesure (impédance, diffraction laser, fluorescence optique, ...) (1). Les prélèvements sanguins utilisés sont réalisés sur des tubes contenant un anticoagulant à base d'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) permettant une conservation optimale des morphologies cellulaires (2). Dans la majorité des cas, la quantification fournie est précise et exacte. Dans certaines circonstances, un décompte erroné par défaut ou par excès peut être constaté, du fait de limites techniques du compteur cellulaire utilisé ou de certaines interférences pré-analytiques (particularités de l'échantillon sanguin, pathologie du patient, altération du prélèvement, ...) (3). Les règles de bonnes pratiques en biologie hématologique recommandent que devant toute thrombopénie constatée sur les automates d'hématologie cellulaire, un frottis sanguin soit réalisé à la recherche d'agrégat ou de satellitisme plaquettaire (3, 4). En cas de recherche positive, la numération plaquettaire doit être refaite en changeant de type d'anticoagulant. La plupart du temps, on a recours au citrate de sodium ou à l'acide citrique, théophylline, adénosine, dipyridamole (CTAD) (5, 6) qui sont des anticoagulants liquides et exigent le respect d'un ratio de neuf volumes de sang pour un volume d'anticoagulant. Aussi, du fait de la dilution du sang, un facteur correctif de 1,1 est appliqué à la valeur de la numération plaquettaire ainsi obtenue (6). Toutefois, plusieurs réserves ont été émises quant à la fiabilité et à la stabilité des numérations de plaquettes sur ces anticoagulants de seconde intention. L'objectif de cette étude était de comparer les numérations plaquettaires obtenues sur échantillons sanguins prélevés sur anticoagulant de type EDTA (tube EDTA) et de type citrate trisodique (tube citraté) au laboratoire d'hématologie du Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulles (CHUP-CDG).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cadre, population et type d'étude

L'étude a été réalisée au CHUP-CDG de Ouagadougou, l'un des cinq hôpitaux de référence de troisième niveau pour les pathologies pédiatriques au Burkina Faso. Le laboratoire d'hématologie réalise des hémogrammes au profit des enfants de moins de 15 ans admis au sein de l'hôpital, mais aussi au profit de patients externes de

tous âges.

Il s'agissait d'une étude transversale conduite entre novembre et décembre 2020 qui a porté sur les hémogrammes des patients réalisés au sein du laboratoire. Pour chaque patient, deux hémogrammes ont été réalisés : l'hémogramme de routine sur tube EDTA et un hémogramme comparatif sur tube citraté.

Les patients des deux sexes âgés d'au moins cinq ans (pour des raisons pratiques pour le prélèvement veineux) ont été inclus.

Variables de l'étude

Les paramètres étudiés étaient la numération des plaquettes sur tube EDTA (NumEDTA) et la numération plaquettaire sur tube citraté corrigée en augmentant la valeur obtenue avec l'automate de 10% pour tenir compte de l'effet de dilution (NumCit). Les anomalies plaquettaires (agrégats et satellitisme plaquettaires, plaquettes géantes) ont été recherchées au frottis sanguin sur les échantillons présentant une thrombopénie (nombre de plaquettes inférieur à 150 G/L).

Taille de l'échantillon

Conformément aux recommandations du *Clinical and Laboratory Standards Institute* (7), un total de 124 patients ont été inclus dans l'étude.

Prélèvements sanguins et analyses biologiques

Pour chaque patient, deux prélèvements sous vide ont été effectués à partir d'une veine périphérique en respectant l'ordre de remplissage des tubes, le prélèvement sur tube citraté avant celui à l'EDTA. Le ratio volume de sang / volume anticoagulant a également été respecté. Les analyses ont été réalisées dans les quatre heures au plus suivant le prélèvement à l'aide de l'automate Horiba ABX Pentra DX Nexus[®] (Horiba Instruments, Inc dba Horiba Medical). Pour tous les échantillons présentant une thrombopénie sur l'un ou l'autre des deux hémogrammes, deux frottis sanguins (à partir du tube EDTA et du tube citraté) ont été immédiatement réalisés et colorés à l'aide du kit RAL MCDh pour la recherche d'anomalies de plaquettes (satellitisme et/ou agrégats plaquettaires, plaquettes géantes).

Toutes les analyses ont été effectuées conformément aux règles de procédures du laboratoire du CHUP-CDG. L'analyseur a été calibré, entretenu et utilisé conformément aux instructions du fabricant. Les validations analytique et biologique ont été faites par des techniciens biomédicaux et des biologistes habilités.

Analyses des données et critères de jugement

Les données ont été saisies sur Excel et importées sur STATA 17 pour les analyses statistiques. Les proportions et les médianes ont été utilisées pour la description de la distribution des variables qualitatives et quantitatives respectivement. Le test de khi² ou de Fischer exact le cas échéant, a été utilisé pour la comparaison des proportions. La distribution du nombre de plaquettes n'étant

pas normale, la comparaison des variables numériques a été réalisée à l'aide du test non paramétrique apparié des rangs signés de Wilcoxon (*Wilcoxon signed-rank test*).

Afin de comparer nos deux séries de mesures du nombre de plaquettes (NumCit et NumEDTA), nous avons utilisé le pourcentage de la différence entre la NumCit et la NumEDTA et une analyse du graphique des différences de Bland & Altman pour évaluer la corrélation et la concordance entre les deux mesures.

Le pourcentage de la différence entre la NumEDTA et la NumCit (DIFF) a été calculé à l'aide de la formule suivante: $\frac{NumEDTA - NumCit}{(NumEDTA + NumCit) / 2}$. La différence entre les deux mesures a été considérée significative si elle est supérieure au seuil de l'erreur analytique totale acceptable de $\pm 25\%$ fixé par le *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (15, 16)

La concordance entre les séries de mesures a été appréciée à l'aide du graphique des différences de Bland & Altman qui compare d'une part, la différence (NumCit – NumEDTA) entre les deux mesures (considérée comme étant normalement distribuée) à la moyenne de leur somme) et d'autre part, apprécie la distribution de ces différences par rapport à des limites de concordance inférieure (LCI) et supérieure (LCS).

Nous avons fixé le seuil de biais cliniquement acceptable à ± 20 G/L en nous référant à la stratification du niveau de risque hémorragique en fonction du nombre de plaquettes; un seuil inférieur à 20 G/L est considéré comme un risque hémorragique élevé (10). Aussi, nous avons considéré qu'une différence supérieure à ± 20 G/L peut induire des implications cliniques dont une transfusion de concentrés de plaquettes par exemple. Le pour-

centage de concordance acceptable entre les mesures ou la proportion des valeurs des différences comprises entre LCS et LCI est fixé à au moins 95% (au moins 95% compris entre les LCS et LCI) (11, 12). Le coefficient de corrélation de concordance de Lin (r_{CCC}) a été utilisé comme indicateur de la force de la concordance entre les mesures. La concordance était décrite comme inacceptable à médiocre si $r_{CCC} \leq 0,7$ et satisfaisante à excellente si $r_{CCC} > 0,7$ (12).

Pour tous les tests statistiques, le seuil de significativité de $p < 0,05$ a été retenu.

Considérations éthiques

Le travail a été réalisé dans le cadre de la validation des méthodes au laboratoire avec l'aval de la Direction de l'hôpital. Les patients ou leurs parents ont donné leur consentement libre et éclairé pour l'étude et les prélèvements des échantillons sanguins. Leur anonymat et leur dignité ont été préservés. Les anomalies constatées chez les patients ont été portées à la connaissance de leurs médecins traitants à travers le rendu des résultats afin qu'ils en prennent compte pour la prise en charge de leurs patients.

RÉSULTATS

Caractéristiques générales

Nous avons inclus au total 124 paires d'échantillons provenant de 124 patients. Le sex-ratio (homme/femme) était de 0,7 et l'âge médian, 11 ans avec un espace interquartile (IQR) de 8-17 ans.

Une thrombopénie a été notée dans 16,1% des échantillons EDTA et 12,9% des échantillons sur tubes au citrate de sodium (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques de base des numérations des plaquettes sur tube EDTA et tube au citrate trisodique

Paramètre	EDTA	Citrate sodique	p value
Nombre (n, %)	124 (100)	124 (100)	-
Minimum – Maximum (Giga/L)	23 – 600	5 – 588	-
Médiane ; IQR (Giga/L)	335 ; [184,5 – 462,5]	310 ; [203 - 414]	< 0,001 [#]
Anomalies plaquettaires			
Thrombopénie (n, %)	20 (16,1)	16 (12,9)	0,471*
Hyperplaquettose (n, %)	46 (37,1)	35 (28,2)	0,136*
Agrégats plaquettaires (n, %)	8 (6,4)	4 (3,2)	0,376*
Satellitisme plaquettaire (n, %)	0 (0)	0 (0)	-
Plaquettes géantes (n, %)	0 (0)	0 (0)	-

*Khi2 ou Fischer exact test; [#] Wilcoxon signed-rank test

Dans 8,1% (10/124) des cas, il y avait une thrombopénie à la fois à la NumEDTA et NumCit et dans 6 cas (4,8%), on avait une thrombopénie à la NumCit qui n'avait pas été notée sur les prélèvements EDTA ($\chi^2 = 29,2$; $p < 0,001$). Le nombre médian de plaquettes était de 335 Giga/L ; IQR (184,5 ; 462,5) pour la NumEDTA et 310 Giga/L ; IQR (203 ; 414) pour la NumCit avec une différence significative ($p < 0,001$) (Figure 1).

Corrélation et concordance entre les deux mesures

La NumCit était inférieure à la NumEDTA de 17,5% (IC 95% [7,0 ; 28,0]) en moyenne en dépit de la correction de +10% faite sur la valeur trouvée à l'automate. Le biais constant moyen entre les deux mesures sur le graphique des différences de Bland & Altman (Figure 2) était de -19,6 Giga/L (IC 95% [-41,2 ; 1,99]), soit une proportion de -6,3% (IC 95% [-13,9 ; 1,2]). Les limites

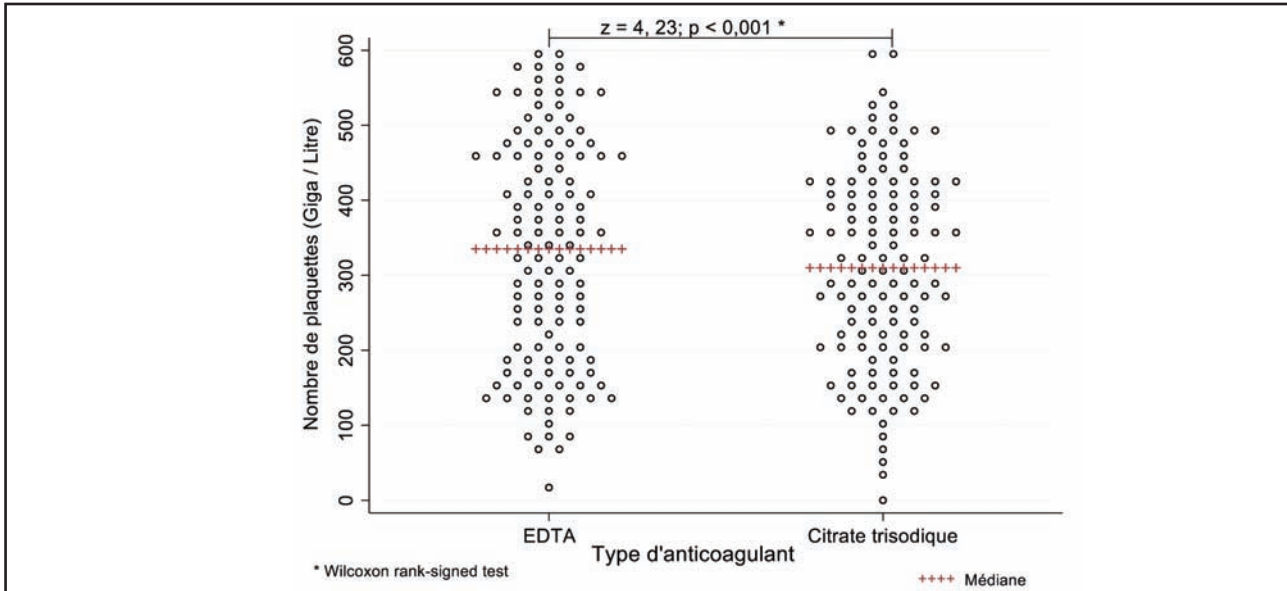


Figure 1 : Comparaison de la médiane des numérations des plaquettes selon le type d'anticoagulant dans le tube

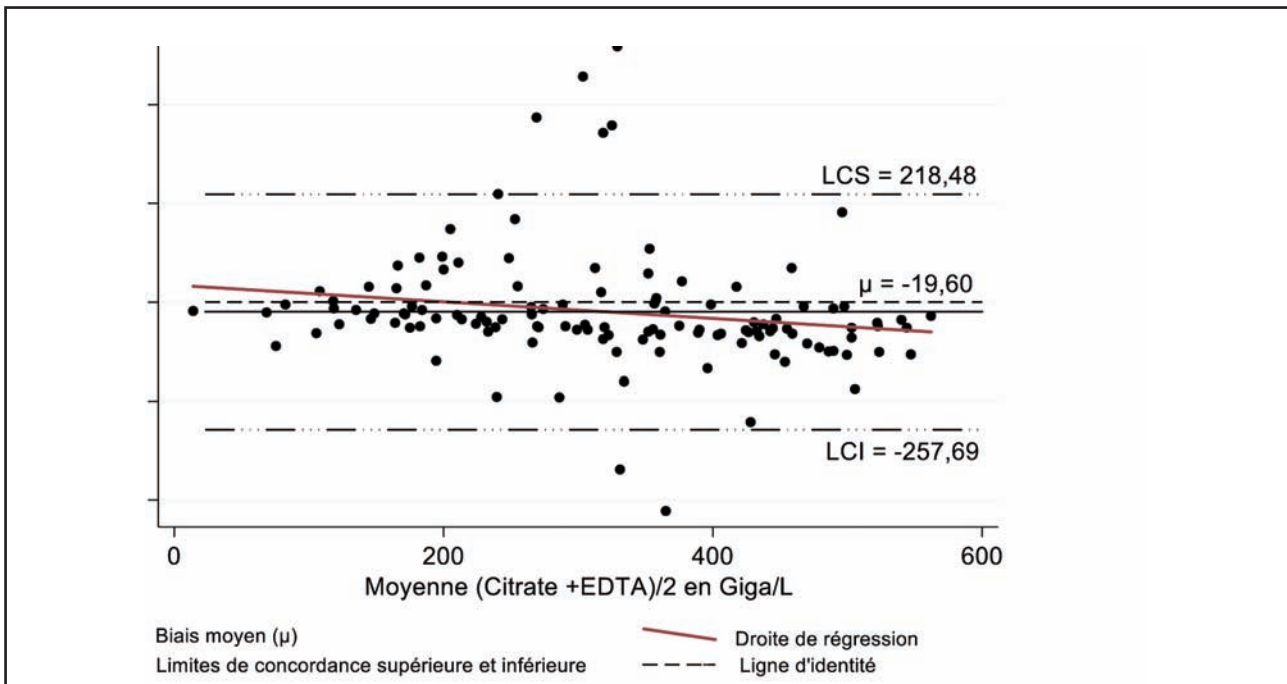


Figure 2 : Diagramme des différences (NumCit – NumEDTA) et des moyennes (NumCit-NumEDTA)/2 de Bland & Altman entre les numérations plaquettaires sur tube EDTA et sur tube citraté

de concordance supérieure et inférieure étaient respectivement de 218,5 Giga/L (IC 95% [181,1 ; 255,9]) et -257,7 Giga/L (IC 95% [-295,1 ; -220,3]). Au total, huit échantillons étaient hors de ces limites de concordance, soit un biais proportionnel de 6,5% (8/124). Le taux de concordance était donc de 93,5% (116/124). Le coefficient de concordance (de Lin) était de 0,63.

DISCUSSION

Les thrombopénies sont les anomalies plaquettaires les plus fréquentes à l'hémogramme. Il est recommandé la recherche systématique de pseudo-thrombopénies en cas de thrombopénie et, au besoin, la vérification de la numération plaquettaire avec un autre anticoagulant (6, 13).

Dans notre étude la prévalence brute des thrombopénies était de 16,1% (20/124) sur les prélèvements EDTA. Dans la littérature, la prévalence des thrombopénies est très variable, allant de 8,3% à 67,6% (14–16). Un large spectre d'étiologies et de présentations cliniques posent souvent des défis diagnostiques en présence d'une thrombopénie (17,18). Les principales causes de thrombopénie sont infectieuse, obstétricale, hépatique, immunologique, tumorale ou iatrogène (héparine, quinine, chimiothérapie, ...); parfois, il peut s'agir de fausse thrombopénie (17). La démarche diagnostique nécessite dans tous les cas, la prise en compte de l'histoire clinique et des caractéristiques biologiques du patient. L'analyse des autres paramètres de l'hémogramme et du frottis sanguin ainsi que la reprise de la numération sur un prélèvement réalisé sur un autre anticoagulant sont des éléments essentiels de cette démarche (19).

Nous avons noté que la thrombopénie était présente à la fois sur anticoagulant de type citrate trisodique et EDTA, dans 10 cas (8,1%) indiquant que ce sont des vraies thrombopénies. Les 10 autres cas sur les 20 (soit 50%) où la thrombopénie n'a pas été confirmée sur tube citraté pouvant être considérés comme des cas de pseudo-thrombopénie. Cette proportion est supérieure aux estimations de l'ordre de 15% de l'ensemble des thrombopénies sur EDTA rapportées par certains auteurs (20). Des micro-agrégats plaquettaires ont été retrouvés dans 8 cas, soit 40% des cas de thrombopénie sur tubes EDTA. Ils persistaient sur les tubes citratés dans la moitié des cas (soit 4 cas). D'autres auteurs estiment la persistance des agrégats plaquettaires sur tubes citratés dans seulement environ 20% des cas (21). Nous ne pouvons pas trop épiloguer ni sur la proportion des pseudo-thrombopénies, ni sur celle des agrégats plaquettaires sur anticoagulant de type citrate au regard de la taille réduite de notre échantillon.

Les pseudo-thrombopénies ont plusieurs causes, allant des défaillances techniques pré-analytiques (amorçage de la coagulation lié à un défaut d'homogénéisation, de difficultés de ponction veineuse, d'excès de remplissage

du tube ou dilution de l'échantillon par le soluté de perfusion...) à des phénomènes artéfactuels dus à l'anticoagulant de type EDTA (satellitisme ou agrégats plaquettaires); c'est la pseudo-thrombopénie induite par l'EDTA. Elle est liée à l'exposition des sites antigéniques cryptiques du complexe des glycoprotéines IIb-IIIa due à l'action des auto-anticorps anti-plaquettes ou à des anticorps anti-phospholipides ou de complexes immuns. Cette interaction conduit à la formation de petits agglutinats de plaquettes (moins d'une dizaine de plaquettes) souvent non détectés, mais parfois aussi, de volumineux amas visibles à l'examen du frottis sanguin. La pseudo-thrombopénie à l'EDTA est décrite comme étant la plus fréquente cause de pseudo-thrombopénies, avec près de 90% des cas (22). Elle peut concerner autant les patients (entre 0,1 - 2% chez les patients hospitalisés) que les personnes saines (environ 0,2% des donneurs de sang) (20, 23).

Cette anomalie *in vitro* qui n'a, a priori pas de signification clinique particulière, est très souvent levée par la reprise de la numération plaquettaire à partir d'un prélèvement sur anticoagulant de type citrate. Le résultat rendu par l'automate est alors majoré de 10% (soit un facteur correctif empirique de 1,1) pour pallier à la dilution du sang (6). Toutefois, le citrate ne semble pas être la panacée. Plusieurs auteurs indexent, outre la persistance du risque de micro-agrégats et de satellitismes plaquettaires, une sous-estimation du nombre des plaquettes sur les NumCit malgré la prise en compte de la dilution liée à l'anticoagulant (6, 13, 24).

Dans notre travail, nous avons non seulement, noté la persistance des amas de plaquettes dans quatre cas, mais aussi une sous-estimation moyenne supplémentaire de la NumCit de 17,5% (en plus des 10% déjà pris en compte) par rapport à la NumEDTA. Guiheneuf *et al.*, (25), dans le cadre d'une démarche d'accréditation de leur laboratoire au Centre hospitalier universitaire d'Amiens-Picardie, ont noté une différence arithmétique de -26,6% entre la NumCit et la NumEDTA, soit un besoin d'appliquer un facteur correctif de 1,266 au lieu de 1,1 (soit un supplément de +16,6%) pour faire concorder les deux mesures. En 2017, Dumont *et al.*, au regard de l'inexactitude du facteur correctif de 1,1 jusque-là appliqué, ont entrepris de déterminer un facteur de commutabilité valide entre les NumCit et NumEDTA. Ils sont arrivés à un facteur de 1,17 (soit un supplément de +7%) (13).

Nous avons par ailleurs noté à l'analyse du graphique de Bland & Altman, la présence de biais proportionnel statistiquement significatif entre les deux mesures avec un coefficient de concordance de la corrélation médiocre ($r_{ccc} = 0,63$). Le taux de concordance était de 93,5% pour un seuil acceptable de 95%. Le biais constant était non significatif, avec une différence moyenne de -19,6 G/L. Tout comme les précédents auteurs qui avaient

constatés des profils de corrélation et concordance similaires (biais constant non significatif avec un biais proportionnel significatif) (13, 25), nous pouvons conclure que la NumCit est statistiquement inférieure à la NumEDTA. Toutefois, cette sous-estimation semble être inférieure au seuil de biais cliniquement acceptable que nous avons fixé à 20 G/L sur la base du risque hémorragique et au seuil de l'erreur analytique totale acceptable de 25% fixé par le *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (8, 9).

La discordance entre la NumCit et la NumEDTA ainsi que les divergences observées dans la proportion de la sous-estimation de la NumCit par rapport à la NumEDTA dans les différentes études peuvent s'expliquer par diverses raisons. Nous pouvons citer entre autres, les conditions pré-analytiques dans les différentes études, vu qu'elles ne sont automatisées. Il s'agit notamment de sur- ou sous-remplissage de certains tubes en raison des différences de pression sous vide des tubes, des difficultés de prélèvement, Toutefois, l'impact de telles disproportions est à nuancer dans la mesure où certains auteurs notent une absence d'effet dilutionnel proportionnel sur le nombre de globules blancs et globules rouges (25, 26). Une autre explication pourrait être certaines différences dans la composition de l'anticoagulant à base de citrate (citrate trisodique ou CTAD) (13, 25).

Aussi, l'effet de la dilution par l'anticoagulant liquide de type citrate n'explique pas à lui seul la divergence sur le nombre des plaquettes à la NumCit par rapport à la NumEDTA. Un effet matrice, dû à l'interférence de certains éléments de l'échantillon, autres que l'analyte d'intérêt, peut être évoqué (27, 28). Cet effet matrice, décrit pour la première fois dans les années 1990, induit un biais sur la valeur de la mesure d'un analyte entre deux sources de matrices distinctes (29). Il est échantillon-dépendant et est influencé par les caractéristiques biologiques du patient, les conditions de prélèvement de l'échantillon, ... Dans le cas de l'utilisation du citrate de sodium pour la numération plaquettaire, Dumont *et al.* expliquent cet effet matrice par l'ensemble des modifications en rapport avec la concentration protéique, le pH

et la force ionique du milieu et l'interférence que cela a à la fois sur le démasquage des sites antigéniques cryptiques IIB / IIIa et les interactions des immunoglobulines avec les récepteurs plaquettaires (13).

Le recours à un anticoagulant à base de citrate en cas de suspicion de pseudo-thrombopénies est une pratique courante au Burkina Faso. Toutefois, aucune évaluation n'avait été faite jusqu'à la présente étude qui comporte quelques limites. En effet, il aurait été plus indiqué de disposer de prélèvements sur d'autres types d'anticoagulants (sel de magnésium, acide citrique, théophylline, adénosine, dipyridamole) (6, 30) afin de mieux apprécier l'effet matrice que nous avons évoqué pour expliquer les différences de nombre de plaquettes observées. Par ailleurs, nos conclusions auraient été encore plus pertinentes, si nous avions comparé les numérations de plaquettes sur tubes EDTA et citratés avec celles obtenues à partir d'une méthode de référence comme la méthode par fluorescence optique ou la méthode immunologique (31, 32).

CONCLUSION

La numération plaquettaire sur tube au citrate reste entachée d'un biais qui entraîne une sous-estimation du nombre de plaquettes par rapport à l'EDTA, malgré l'application du facteur correctif de 1,10 pour tenir compte de l'effet de dilution. La numération des plaquettes sur tube au citrate ne devrait donc pas être recommandée en routine. Son utilisation doit être précédée par une validation de méthode qui prend en compte, outre la comparabilité des méthodes, la fidélité, la justesse / exactitude des analyses. Dans tous les cas, la numération des plaquettes sur tube citraté doit être interprétée en parallèle avec celle sur tube EDTA ainsi qu'avec les résultats du frottis sanguin. Le résultat de la NumCit sera pris en compte en cas d'objectivation d'agrégats plaquettaires sur le tube EDTA, tout en attirant l'attention du clinicien sur le fait que le compte est sous-estimé dans le rendu des résultats. En fonction du contexte clinique du patient, il pourra juger de la pertinence ou non de cette observation biologique et entreprendre la conduite à tenir la plus appropriée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Imbert M, Jouault H. Hémogramme : réalisation par un automate. EMC - Biologie Médicale 2006; 1(3):1-10.
2. Antwi-Baffour S. Prolong Storage of Blood in EDTA Has an Effect on the morphology and osmotic fragility of erythrocytes. International Journal of Biomedical Science and Engineering 2013; 1(2):20-23.
3. Tessier-Marteau A, Geneviève F, Godon A, Macchi L, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. Ann Biol Clin (Paris) 2010; 68(4):393-407.
4. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. Clin Lab Haematol 2007;29(1):4-20.
5. MediLab Group. Conditions préanalytiques en hématologie. MediLab - Info 2013;(3):1-3.
6. Védy S, Boom B, Perez P, Schillinger S, Ragot C, Bakkouch S, *et al.* Automatic platelets numbering with citrate as anticoagulant: is the result valid? Ann Biol Clin (Paris) 2011;69(4):453-458.

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples: approved guideline. CLSI document EP09-A3, 3rd Ed. Wayne, PA: CLSI;2013. p. 1-15.
8. Westgard J. Consolidated comparison of hematology performance specifications [Internet]. WESTGARD QC. 2018 [cité 14 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.westgard.com/hematology-goals.htm>.
9. Nabity MB, Harr KE, Camus MS, Flatland B, Vap LM. ASVCP guidelines: Allowable total error hematology. *Vet Clin Pathol* 2018;47(1):9-21.
10. Podda GM, Pugliano M, Casazza G, Soru P, Scavone M, Vismara G, *et al.* Measurement of platelet count with different anticoagulants in thrombocytopenic patients and healthy subjects: accuracy and stability over time. *Haematologica* 2019;104(12):e570-e572.
11. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Int J Nurs Stud* 2010;47:931-938.
12. Desquilbet L. Guide pratique de validation statistique de méthodes de mesure: répétabilité, reproductibilité, et concordance. *HAL Archives* 2012;v3:1-48.
13. Dumont P, Goussot V, David A, Lizard S, Riedinger J-M. Identification and validation of a factor of commutability between platelet counts performed on EDTA and citrate. *Ann Biol Clin (Paris)* 2017; 75(1):61-66.
14. Vaughan JL, Fourie J, Naidoo S, Subramony N, Wiggill T, Alli N. Prevalence and causes of thrombocytopenia in an academic state-sector laboratory in Soweto, Johannesburg, South Africa. *S Afr Med J*. 2015;105(3): 215-219.
15. Jali AG, Nkambule BB. Prevalence and aetiology of moderate and severe thrombocytopenia in a tertiary and quaternary centre in KwaZulu-Natal. *Afr J Lab Med* 2020;9(1):1-5
16. Hui P, Cook DJ, Lim W, Fraser GA, Arnold DM. The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. *Chest*. 2011;139(2):271-278.
17. Ali N, Auerbach HE. New-onset acute thrombocytopenia in hospitalized patients: pathophysiology and diagnostic approach. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2017;7(3):157-167.
18. McCrae KR. Thrombocytopenia in pregnancy (chapter 44). In: Michelson AD, éditeur. *Platelets*. 3^e éd. London: Academic Press; 2013. p. 909-928.
19. Smock KJ, Perkins SL. Thrombocytopenia: an update. *Int J Laborat Hematol*. 2014;36(3):269-78.
20. Lewinski UH, Cycowitz Z, Cohen AM, Gardyn J, Mittelman M. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. *Haematologia* 2000;30(2):117-21.
21. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A. Edta-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol* 1991;36(3):195-201.
22. Silvestri F, Virgolini L, Savignano C, Zaja F, Velisig M, Baccarani M. Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang* 1995;68(1):35-39.
23. Tomicic M, Vuk T, Gulan-Harcet J. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia in blood donors: Letter to the Editor. *Transfus Med* 2015;25(1):47-48.
24. Baccini V, Geneviève F, Jacqmin H, Chatelain B, Girard S, Wuilleme S, *et al.* Platelet counting: ugly traps and good advice. Proposals from the French-Speaking Cellular Hematology Group (GFHC). *J Clin Med* 2020;9(3):1-27.
25. Guiheneuf E, Duhin M, Bouju T, Harrivel V. Comparaison de la numération plaquettaire sur tube citrate de Na 9NC par rapport au tube EDTA K2 dans l'optique de l'accréditation Iso15189. Poster présenté au: 35^{ème} Congrès de la Société française d'hématologie; 1-3 Avril 2015; Paris, France.
26. Stokol T, Erb HN. A comparison of platelet parameters in EDTA- and citrate-anticoagulated blood in dogs. *Vet Clin Pathol* 2007;36(2):148-154.
27. Hughes NC, Bajaj N, Fan J, Wong EY. Assessing the matrix effects of hemolyzed samples in bioanalysis. *Bioanalysis* 2009;1(6):1057-1066.
28. Yavuz HB, Yaman H, Tat M, Akidan O, Orem A, Karahan SC *et al.* A practical solution of matrix interference effect with saline replacement in samples of chemotherapy received patients whose differential count of leukocyte cannot be measured. *Int J Med Biochem* 2021;4(3):161-165.
29. Doucet J. Développement de méthodes innovantes pour la réduction de l'effet matrice dans les dosages immuno-enzymatiques. Applications pour la quantification des anticorps thérapeutiques monoclonaux et de biomarqueurs au cours des études cliniques et précliniques [Thèse Doctorat]. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon; 2010. p127.
30. Choccalingam C, Kanna Nandagopal Radha R, Snigdha N. Estimation of platelet counts and other hematological parameters in pseudothrombocytopenia using alternative anticoagulant: magnesium sulfate. *Clin Med Insights Blood Disord* 2017;10:1-6.
31. Bao Y, Wang J, Wang A, Bian J, Jin Y. Correction of spurious low platelet counts by optical fluorescence platelet counting of BC-6800 hematology analyzer in EDTA-dependent pseudo thrombocytopenia patients. *Transl Cancer Res TCR* 2020;9(1):166-172.
32. Harrison P, Ault KA, Chapman S, Charie L, Davis B, Fujimoto K, *et al.* An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting. *Am J Clin Pathol* 2001;115(3):448-459.