

UNIVERSITE DE STRASBOURG

FACULTE DE MEDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTE

ANNEE : 2020

N° : 311

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES (D.E.S.)
DE BIOLOGIE MEDICALE

qui, conformément aux dispositions réglementaires tient lieu de :

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

PRESENTE ET SOUTENU

LE 23/12/2020

PAR

LECOMTE Sarah Emanuelle Marie

née le 12/05/1991 à Sélestat

Diagnostic des liquides d'épanchement pleuraux et d'ascite : état des lieux des connaissances, techniques d'analyse et activité au laboratoire d'hématologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.

JURY

Président : MAUVIEUX Laurent, PU-PH

Membres : EISCHEN Alice, PH
LESSINGER Jean-Marc, PU-PH
ANDRES Emmanuel, PU-PH
ENACHE Irina, MCU-PH



1
FACULTÉ DE MÉDECINE
 (U.F.R. des Sciences Médicales)

- **Président de l'Université** M. DENEKEN Michel
- **Doyen de la Faculté** M. SIBILIA Jean
- **Assesseur du Doyen (13.01.10 et 08.02.11)** M. GOICHOT Bernard
- **Doyens honoraires :** (1976-1983) M. DORNER Marc
- (1983-1989) M. MANTZ Jean-Marie
- (1989-1994) M. VINCENDON Guy
- (1994-2001) M. GERLINGER Pierre
- (3.10.01-7.02.11) M. LUDES Bertrand
- **Chargé de mission auprès du Doyen** M. VICENTE Gilbert
- **Responsable Administratif** M. BITSCH Samuel

Edition JUIN 2020
 Année universitaire 2019-2020

HOPITAUX UNIVERSITAIRES
 DE STRASBOURG (HUS)
 Directeur général :
 M. GAUTIER Christophe



A1 - PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLEGE DE FRANCE
 MANDEL Jean-Louis Chaire "Génétique humaine" (à compter du 01.11.2003)

A2 - MEMBRE SENIOR A L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.)
 BAHRAM Selamak Immunologie biologique (01.10.2013 au 31.09.2018)
 DOLLFUS Hélène Génétique clinique (01.10.2014 au 31.09.2019)

A3 - PROFESSEUR(E)S DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS (PU-PH)

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
ADAM Philippe P0001	NRP0 NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de chirurgie orthopédique et de Traumatologie / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
AKLADIOS Charif P0191	NRP0 CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique : gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
ANDRES Emmanuel P0002	NRP0 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques / HC	53.01 Option : médecine Interne
ANHEIM Mathieu P0003	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou-CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Haute-pierre	49.01 Neurologie
ARNAUD Laurent P0186	NRP0 NCS	• Pôle MIRNED - Service de Rhumatologie / Hôpital de Haute-pierre	50.01 Rhumatologie
BACHELLIER Philippe P0004	RP0 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. de chirurgie générale, hépatique et endocrinienne et Transplantation / HP	53.02 Chirurgie générale
BAHRAM Selamak P0005	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire d'immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil Institut d'Hématologie et d'immunologie / Hôpital Civil / Faculté	47.03 Immunologie (option biologique)
BALDAUF Jean-Jacques P0006	NRP0 NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / Hôpital de Haute-pierre	54.03 Gynécologie-Obstétrique : gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
BAUMERT Thomas P0007	NRP0 CU	• Pôle Hépatodigestif de l'Hôpital Civil - Unité d'Hépatologie - Service d'Hépatogastro-Entérologie / NHC	52.01 Gastro-entérologie ; hépatologie Option : hépatologie
Mme BEAU-FALLER Michèle M0007 / P0170	NRP0 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
BEAUJEUX Rémy P0008	NRP0 Resp	• Pôle d'Imagerie - CME / Activités transversales • Unité de Neuroradiologie Interventionnelle / Hôpital de Haute-pierre	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
BECMEUR François P0009	RP0 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Haute-pierre	54.02 Chirurgie infantile
BERNA Fabrice P0192	NRP0 CS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; Addictologie Option : Psychiatrie d'Adultes
BERTSCHY Gilles P0013	NRP0 CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie II / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
BIERRY Guillaume P0178	NRP0 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie II - Neuroradiologie-Imagerie ostéocartilae-Pédiatrie / Hôpital Haute-pierre	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
BILBAULT Pascal P0014	NRP0 CS	• Pôle d'Urgences / Réanimations médicales / CAP - Service des Urgences médico-chirurgicales Adultes / Hôpital de Haute-pierre	48.02 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : médecine d'urgence
BLANC Frédéric P0213	NRP0 NCS	• Pôle de Gériatrie - Service de Médecine Interne - Gériatrie - Hôpital de la Robertsau	53.01 Médecine Interne ; addictologie Option : gériatrie et biologie du vieillissement
DODIN Frédéric P0187	NRP0 NCS	• Pôle de Chirurgie Maxillo-faciale, morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie maxillo-faciale et réparatrice / Hôpital Civil	50.04 Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique ; Brûlologie
Mme BOEHM-BURGER Nelly P0016	NCS	• Institut d'Histologie / Faculté de Médecine	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
BONNOMET François P0017	NRP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie orthopédique et de Traumatologie / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
BOURCIER Tristan P0018	NRP0 NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophthalmologie / SMO - Service d'Ophthalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophthalmologie
BOURGIN Patrice P0020	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital Civil	49.01 Neurologie
Mme BRIGAND Cecile P0022	NRP0 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale

NHC = Nouvel Hôpital Civil HC = Hôpital Civil HP = Hôpital de Haute-pierre PTM = Plateau technique de microbiologie

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
BRUIANT-RODIER Catherine P0023	NRP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie Maxillo-faciale et réparatrice / HP	50.04 Option : chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
Mme CAILLARD-OHLMANN Sophie P0171	NRP0 NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophthalmologie / SMO - Service de Néphrologie-Transplantation / NHC	52.03 Néphrologie
CASTELAIN Vincent P0027	NRP0 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital Hautepierre	48.02 Réanimation
CHAKFE Nabil P0029	NRP0 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire / Option : chirurgie vasculaire
CHARLES Yann-Philippe M0013 / P0172	NRP0 NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie du rachis / Chirurgie B / HC	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme CHARLOUX Anne P0028	NRP0 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
Mme CHARPIOT Anne P0030	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
CHELLY Jameeddine P0173	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / NHC	47.04 Génétique (option biologique)
Mme CHENARD-NEU Marie-Pierre P0041	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques (option biologique)
CLAVERT Philippe P0044	NRP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Centre de Chirurgie du Membre supérieur / HP	42.01 Anatomie (option clinique, orthopédie traumatologique)
COLLANGE Olivier P0193	NRP0 NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale / NHC	48.01 Anesthésiologie-Réanimation ; Médecine d'urgence (option Anesthésiologie-Réanimation - Type clinique)
CRIBIER Bernard P0045	NRP0 CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénérologie
DANION Jean-Marie P0046	NRP0 NCS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie 1 / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
de BLAY de GAIX Frédéric P0048	RP0 CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
de SEZE Jérôme P0057	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
DEBRY Christian P0049	NRP0 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
DERUELLE Philippe P0199	NRP0 NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / Hôpital de Hautepierre	54.03 Gynécologie-Obstétrique, gynécologie médicale: option gynécologie-obstétrique
DIEMUNSCHE Pierre P0051	RP0 CS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale / Hôpital de Hautepierre	48.01 Anesthésiologie-réanimation (option clinique)
Mme DOLLFUS-WALTMANN Hélène P0054	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Service de Génétique Médicale / Hôpital de Hautepierre	47.04 Génétique (type clinique)
EHLINGER Matthieu P0188	NRP0 NCS	• Pôle de l'Appareil Locomoteur - Service de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie/Hôpital de Hautepierre	50.02 Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme ENTZ-WERLE Natacha P0059	NRP0 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
Mme FACCA Sybille P0179	NRP0 NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de la Main et des Nerfs périphériques / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme FAFI-KREMER Samira P0060	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire (Institut) de Virologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Radiologie-Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie-Virologie biologique
FALCOZ Pierre-Emmanuel P0052	NRP0 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Chirurgie Thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
FORNECKER Luo-Matthieu P0208	NRP0 NCS	• Pôle d'Oncolo-Hématologie - Service d'hématologie et d'Oncologie / Hôp. Hautepierre	47.01 Hématologie ; Transfusion Option : Hématologie
GALLUX Benoit P0214	NCS	• IHU - Institut Hospitalo-Universitaire - Hôpital Civil	43.02 Radiologie et Imagerie médicale
GANGI Afshin P0062	RP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A Interventionnelle / Nouvel Hôpital Civil	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
GAUCHER David P0063	NRP0 NCS	• Pôle des Spécialités Médicales - Ophthalmologie / SMO - Service d'Ophthalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophthalmologie
GENY Bernard P0064	NRP0 CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
GEORG Yannick P0200	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire / Option : chirurgie vasculaire
GIOQUEL Philippe P0065	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Hautepierre	54.02 Chirurgie Infantile
GOICHOT Bernard P0066	RP0 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne et de nutrition / HP	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme GONZALEZ Maria P0067	NRP0 CS	• Pôle de Santé publique et santé au travail - Service de Pathologie Professionnelle et Médecine du Travail / HC	46.02 Médecine et santé au travail Travail

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
GOTTENBERG Jacques-Eric P0068	NRP0 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Hautepierre	50.01 Rhumatologie
HANNEDOUCHE Thierry P0071	NRP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie - Dialyse / Nouvel Hôpital Civil	52.03 Néphrologie
HANSMANN Yves P0072	NRP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service des Maladies infectieuses et tropicales / Nouvel Hôpital Civil	45.03 Option : Maladies infectieuses
Mme HELMS Julie M0114 / P0209	NRP0 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Médecine Intensive-Réanimation
HERBRECHT Raoul P0074	RP0 NCS	• Pôle d'Oncologie-Hématologie - Service d'hématologie et d'Oncologie / Hôp. Hautepierre	47.01 <u>Hématologie</u> ; Transfusion
HIRSCH Edouard P0075	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
IMPERIALE Alessio P0154	NRP0 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire/Hôpital de Hautepierre	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
ISNER-HOROBETI Marie-Eve P0189		• Pôle de Médecine Physique et de Réadaptation - Institut Universitaire de Réadaptation / Clémenceau	49.05 <u>Médecine Physique et Réadaptation</u>
JAUHAC Benoît P0078	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté de Méd.	45.01 Option : <u>Bactériologie</u> -virologie (biologie)
Mme JEANDIDIER Nathalie P0079	NRP0 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service d'Endocrinologie, diabète et nutrition / HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme JESEL-MOREL Laurence P0201	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
KALTENBACH Georges P0081	RP0 CS	• Pôle de Gériatrie - Service de Médecine Interne - Gériatrie / Hôpital de la Robertsau	53.01 Option : gériatrie et biologie du vieillissement
KEMPF Jean-François P0083	RP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Centre de Chirurgie Orthopédique et de la Main-CCOM / Illkirch	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme KESSLER Laurence P0084	NRP0 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service d'Endocrinologie, Diabète, Nutrition et Addictologie / Méd. B / HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
KESSLER Romain P0085	NRP0 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
KINDO Michel P0195	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
KOPFERSCHMITT Jacques P0086	NRP0 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service d'Urgences médico-chirurgicales adultes/Nouvel Hôpital Civil	48.04 Thérapeutique (option clinique)
Mme KORGANOW Anne-Sophie P0087	NRP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
KREMER Stéphane M0038 / P0174	NRP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Service Imagerie 2 - Neuroradio Ostéoarticulaire - Pédiatrie / HP	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
KUHN Pierre P0175	NRP0 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Néonatalogie et Réanimation néonatale (Pédiatrie II) / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
KURTZ Jean-Emmanuel P0089	NRP0 CS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Service d'hématologie et d'Oncologie / Hôpital Hautepierre	47.02 Option : Cancérologie (clinique)
Mme LALANNE-TONGIO Laurence P0202	NRP0 NCS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; <u>Addictologie</u> (Option : Addictologie)
LANG Hervé P0090	NRP0 NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
LAUGEL Vincent P0092	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie 1 / Hôpital Hautepierre	54.01 Pédiatrie
LE MINOR Jean-Marie P0190	NRP0 NCS	• Pôle d'Imagerie - Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine - Service de Neuroradiologie, d'imagerie Ostéoarticulaire et Interventionnelle/ Hôpital de Hautepierre	42.01 Anatomie
LIPSKER Dan P0093	NRP0 NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-vénérologie
LIVERNEAUX Philippe P0094	NRP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie orthopédique et de la main / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
MALOUF Gabriel P0203	NRP0 NCS	• Pôle d'Onco-hématologie - Service d'Hématologie et d'Oncologie / Hôpital de Hautepierre	47.02 <u>Cancérologie</u> ; Radiothérapie Option : Cancérologie
MARK Manuel P0098	NRP0 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Cytogénétique, Cytologie et Histologie quantitative / Hôpital de Hautepierre	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MARTIN Thierry P0099	NRP0 NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme MASCAUX Céline P0210	NRP0 CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 <u>Pneumologie</u> ; Addictologie

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme MATHELIN Carole P0101	NRP0 NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Unité de Sénologie - Hôpital Civil	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; Gynécologie Médicale
MAUVIEUX Laurent P0102	NRP0 CS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Laboratoire d'Hématologie Biologique - Hôpital de Haute-pierre - Institut d'Hématologie / Faculté de Médecine	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
MAZZUCOTELLI Jean-Philippe P0103	RP0 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MERTES Paul-Michel P0104	NRP0 CS	• Pôle d'Anesthésiologie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation chirurgicale / Nouvel Hôpital Civil	48.01 Option : Anesthésiologie-Réanimation (type mixte)
MEYER Nicolas P0105	NRP0 NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Laboratoire de Biostatistiques / Hôpital Civil - Biostatistiques et Informatique / Faculté de médecine / Hôpital Civil	46.04 Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication (option biologique)
MEZIANI Ferhat P0106	NRP0 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Réanimation
MONASSIER Laurent P0107	NRP0 CS	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Unité de Pharmacologie clinique / Nouvel Hôpital Civil	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
MOREL Olivier P0108	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
MOULIN Bruno P0109	NRP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie - Transplantation / Nouvel Hôpital Civil	52.03 Néphrologie
MUTTER Didier P0111	RP0 CS	• Pôle Hépatodigestif de l'Hôpital Civil - Service de Chirurgie Digestive / NHC	52.02 Chirurgie digestive
NAMER Izzie Jacques P0112	NRP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire / Haute-pierre / NHC	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
NOEL Georges P0114	NCS	• Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss (par convention) - Département de radiothérapie	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option Radiothérapie biologique
OHANA Mickael P0211	NRP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
OHLMANN Patrick P0115	NRP0 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
Mme OLLAND Anne P0204	NRP0 NCS	• Pôle de Pathologie Thoracique - Service de Chirurgie thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme PAILLARD Catherine P0180	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgicale de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Haute-pierre	54.01 Pédiatrie
PELACCIA Thierry P0205	NRP0 NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimation chirurgicales / SAMU-SMUR - Service SAMU/SMUR / HP	48.05 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : Médecine d'urgences
Mme PERRETTA Silvana P0117	NRP0 NCS	• Pôle Hépatodigestif de l'Hôpital Civil - Service d'Urgence, de Chirurgie Générale et Endocrinienne / NHC	52.02 Chirurgie digestive
PESSAUX Patrick P0118	NRP0 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service d'Urgence, de Chirurgie Générale et Endocrinienne / NHC	53.02 Chirurgie Générale
PETIT Thierry P0119	CDP	• Centre Régional de Lutte Contre le Cancer - Paul Strauss (par convention) - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
PIVOT Xavier P0206	NRP0 NCS	• Centre Régional de Lutte Contre le Cancer - Paul Strauss (par convention) - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
POTTECHER Julien P0181	NRP0 NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésie et de Réanimation Chirurgicale / Hôpital de Haute-pierre	48.01 Anesthésiologie-réanimation ; Médecine d'urgence (option clinique)
PRADIGNAC Alain P0123	NRP0 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne et nutrition / HP	44.04 Nutrition
PROUST François P0182	NRP0 CS	• Pôle Tête et Cou - Service de Neurochirurgie / Hôpital de Haute-pierre	49.02 Neurochirurgie
Pr RAUL Jean-Sébastien P0125	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et NHC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
REIMUND Jean-Marie P0126	NRP0 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service d'Hépatogastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive / HP	52.01 Option : Gastro-entérologie
Pr RICCI Roméo P0127	NRP0 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
ROHR Serge P0128	NRP0 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
Mme ROSSIGNOL-BERNARD Sylvie P0196	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Haute-pierre	54.01 Pédiatrie
ROUL Gérard P0129	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
Mme ROY Catherine P0140	NRP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (opt clinique)
SANANES Nicolas P0212	NRP0 CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique/ HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
SAUDER Philippe P0142	NRP0 CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Réanimation
SAUER Arnaud P0183	NRP0 NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
SAULEAU Erik-André P0184	NRP0 NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Laboratoire de Biostatistiques / Hôpital Civil • Biostatistiques et informatique / Faculté de médecine / HC	46.04 Biostatistiques, Informatique médicale et Technologies de Communication (option biologique)
SAUSSINE Christian P0143	RP0 CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
Mme SCHATZ Claude P0147	RP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
SCHNEIDER Francis P0144	RP0 CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital de Haute-pierre	48.02 Réanimation
Mme SCHRÖDER Carmen P0185	NRP0 CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychothérapie pour Enfants et Adolescents / Hôpital Civil	49.04 <u>Pédopsychiatrie</u> ; Addictologie
SCHULTZ Philippe P0145	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
SERFATY Lawrence P0197	NRP0 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service d'Hépatogastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive / HP	52.01 Gastro-entérologie ; Hépatologie ; Addictologie Option : Hépatologie
SIBILIA Jean P0146	NRP0 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Haute-pierre	50.01 Rhumatologie
STEIB Jean-Paul P0149	NRP0 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie du rachis / Hôpital de Haute-pierre	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
STEPHAN Dominique P0150	NRP0 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service des Maladies vasculaires - HTA - Pharmacologie clinique / Nouvel Hôpital Civil	51.04 Option : Médecine vasculaire
THAVEAU Fabien P0152	NRP0 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Option : Chirurgie vasculaire
Mme TRANCHANT Christine P0153	NRP0 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Haute-pierre	49.01 Neurologie
VEILLON Francis P0155	NRP0 CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie 1 - Imagerie viscérale, ORL et mammaire / Hôpital Haute-pierre	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
VELTEN Michel P0156	NRP0 NCS CS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Département de Santé Publique / Secteur 3 - Epidémiologie et Economie de la Santé / Hôpital Civil • Laboratoire d'Epidémiologie et de santé publique / HC / Fac de Médecine • Centre de Lutte contre le Cancer Paul Strauss - Serv. Epidémiologie et de biostatistiques	46.01 Epidémiologie, économie de la santé et prévention (option biologique)
VETTER Denis P0157	NRP0 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques/HC	52.01 Option : Gastro-entérologie
VIDAILHET Pierre P0158	NRP0 NCS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
VIVILLE Stéphane P0159	NRP0 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Pathologies tropicales / Fac. de Médecine	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
VOGEL Thomas P0160	NRP0 CS	• Pôle de Gériatrie - Service de soins de suite et réadaptations gériatriques / Hôpital de la Robertsau	51.01 Option : Gériatrie et biologie du vieillissement
WEBER Jean-Christophe Pierre P0162	NRP0 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne / Nouvel Hôpital Civil	53.01 Option : Médecine Interne
WOLF Philippe P0207	NRP0 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie Générale et de Transplantations multiorganes / HP - Coordonnateur des activités de prélèvements et transplantations des HU	53.02 Chirurgie générale
Mme WOLFF Valérie P0001	NRP0 NCS	• Pôle Tête et Cou - Unité Neurovasculaire / Hôpital de Haute-pierre	49.01 Neurologie

HC : Hôpital Civil - HP : Hôpital de Haute-pierre - NHC : Nouvel Hôpital Civil

* : CS (Chef de service) ou NCS (Non Chef de service hospitalier) CspI : Chef de service par intérim CSp : Chef de service provisoire (un an)

CU : Chef d'unité fonctionnelle

P0 : Pôle RP0 (Responsable de Pôle) ou NRP0 (Non Responsable de Pôle)

Cons. : Consultant hospitalier (poursuite des fonctions hospitalières sans chefferie de service) Dir : Directeur

(1) En sumombre universitaire jusqu'au 31.08.2018

(3)

(5) En sumombre universitaire jusqu'au 31.08.2019

(6) En sumombre universitaire jusqu'au 31.08.2017

(7) Consultant hospitalier (pour un an) éventuellement renouvelable → 31.08.2017

(8) Consultant hospitalier (pour une 2ème année) → 31.08.2017

(9) Consultant hospitalier (pour une 3ème année) → 31.08.2017

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
----------------	-----	--	--

A4 - PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES

HABERSETZER François	CS	Pôle Hépato-digestif 4190 Service de Gastro-Entérologie - NHC	52.01 Gastro-Entérologie
CALVEL Laurent	NRP0 CS	Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO Service de Soins palliatifs / NHC	46.05 Médecine palliative
SALVAT Eric		Centre d'Evaluation et de Traitement de la Douleur	

MO128 B1 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (MCU-PH)

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
AGIN Arnaud MO001		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire/Hôpital de Hautepele	43.01 Biophysique et Médecine nucléaire
Mme ANTAL Maria Cristina MO003		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hautepele • Faculté de Médecine / Institut d'Histologie	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
Mme ANTONI Delphine MO109		• Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie
ARCEMI Xavier MO442 (En disponibilité)		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service des Maladies Infectieuses et Tropicales / Nouvel Hôpital Civil	45.03 Maladies infectieuses ; Maladies tropicales Option : Maladies infectieuses
Mme AYME-DIETRICH Estelle MO117		• Pôle de Pharmacologie - Unité de Pharmacologie clinique / Faculté de Médecine	48.03 Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie Option : pharmacologie fondamentale
Mme BARNIG Cindy MO110		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations Fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie
Mme BIANCALANA Valérie MO008		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
BLONDET Cytile MO091		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire/Hôpital de Hautepele	43.01 Biophysique et médecine nucléaire (option clinique)
BONNEMAINS Laurent MO099		• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	54.01 Pédiatrie
BOUSIGES Olivier MO092		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
CARAPITO Raphaël MO113		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie
CAZZATO Roberto MO118		• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A Interventionnelle / NHC	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
Mme CEBULA Hélène MO124		• Pôle Tête-Cou - Service de Neurochirurgie / HP	49.02 Neurochirurgie
CERLINE Jocelyn MO012		• Pôle d'Oncologie et d'Hématologie - Service d'Oncologie et d'Hématologie / HP	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie (option biologique)
CHOQUET Philippe MO014		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire / HP	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
COLLONGUES Nicolas MO016		• Pôle Tête et Cou-CETD - Centre d'Investigation Clinique / NHC et HP	49.01 Neurologie
DALI-YOUCEF Ahmed Nassim MO017		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme de MARTINO Sylvie MO018		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Bactériologie / PTM HUS et Faculté de Médecine	45.01 Bactériologie-virologie Option bactériologie-virologie biologique
Mme DEPIENNE Christel ME498 (En disponibilité)	CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Cytogénétique / HP	47.04 Génétique
DEVYS Didier MO019		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
DOLLÉ Pascal MO021		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme ENACHE Irina MO024		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie
Mme FARRUGIA-JACAMON Audrey MO034		• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et HC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
FILISSETTI Denis MO025		• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Faculté	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
FOUCHER Jack MO027		• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	44.02 Physiologie (option clinique)
GUERIN Eric MO032		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
GUFFROY Aurélien MO125		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme HARSAN-RASTEI Laura MO119		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire / Hôpital de Hautepele	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
Mme HEIMBURGER Céline MO120		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire/Hôpital de Hautepele	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
HUBELE Fabrice MO033		• Pôle d'Imagerie - Service de Biophysique et de Médecine nucléaire / HP et NHC	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
JEGU Jérémie MO101		• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Service de Santé Publique / Hôpital Civil	46.01 Epidémiologie, Economie de la santé et Prévention (option biologique)

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
JEHL François M0035		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
KASTNER Philippe M0089		• Pôle de Biologie - Laboratoire de diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme KEMMEL Véronique M0036		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
KOCH Guillaume M0126		- Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine	42.01 Anatomie (Option clinique)
Mme LAMOUR Valérie M0040		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme LANNES Béatrice M0041		• Institut d'Histologie / Faculté de Médecine • Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Haute-pierre	Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique) 42.02
LAVALUX Thomas M0042		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire
LAVIGNE Thierry M0043	CS	• Pôle de Santé Publique et Santé au travail - Service d'hygiène hospitalière et de médecine préventive / PTM et HUS - Equipe opérationnelle d'hygiène	45.01 Epidémiologie, économie de la santé et prévention (option biologique)
Mme LEJAY Anne M0102		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (Biologique)
LENORMAND Cédric M0103		• Pôle de Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénérologie
Mme LETSCHER-BRU Valérie M0045		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS • Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
LHERMITTE Benoît M0115		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Haute-pierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques
Mme LONSDORFER-WOLF Evelyne M0090		• Institut de Physiologie Appliquée - Faculté de Médecine • Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie
LUTZ Jean-Christophe M0046		• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Serv. de Chirurgie Maxillo-faciale, plastique reconstructrice et esthétique/HC	55.03 Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
MEYER Alain M0093		• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
MIGUET Laurent M0047		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Hôpital de Haute-pierre et NHC	44.03 Biologie cellulaire (type mixte : biologique)
Mme MOUTOU Céline ép. GUNTHER M0049	CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic préimplantatoire / CMCO Schiltigheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MULLER Jean M0050		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme NICOLAE Alina M0127		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Haute-pierre	42.03 Anatomie et Cytologie Pathologiques (Option Clinique)
NOLL Eric M0111		• Pôle d'Anesthésie Réanimation Chirurgicale SAMU-SMUR - Service Anesthésiologie et de Réanimation Chirurgicale - Hôpital Haute-pierre	48.01 Anesthésiologie-Réanimation ; Médecine d'urgence
Mme NOURRY Nathalie M0011		• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Service de Pathologie professionnelle et de Médecine du travail - HC	46.02 Médecine et Santé au Travail (option clinique)
PENCREACH Erwan M0052		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / Nouvel Hôpital Civil	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
PFAFF Alexander M0053		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS	45.02 Parasitologie et mycologie
Mme PITON Amélie M0054		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / NHC	47.04 Génétique (option biologique)
PREVOST Gilles M0057		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
Mme RADOSAVLJEVIC Mirjana M0058		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
Mme REIX Nathalie M0095		• Pôle de Biologie - Labo. d'Explorations fonctionnelles par les isotopes / NHC • Institut de Physique biologique / Faculté de Médecine	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
ROGUE Patrick (cf. A2) M0060		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire (option biologique)
Mme ROLLAND Delphine M0121		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Haute-pierre	47.01 Hématologie ; transfusion (type mixte : Hématologie)
ROMAIN Benoît M0061		• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme RUPPERT Elisabeth M0106		• Pôle Tête et Cou - Service de Neurologie - Unité de Pathologie du Sommeil / Hôpital Civil	49.01 Neurologie
Mme SABOU Aïna M0096		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS - Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme SCHEIDECKER Sophie M0122		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique
Mme SCHNEIDER Anne M0107		• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie pédiatrique / Hôpital de Hautepeirre	54.02 Chirurgie Infantile
SCHRAMM Frédéric M0068		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
Mme SOLIS Morgane M0123		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital de Hautepeirre	45.01 Bactériologie-Virologie ; hygiène hospitalière Option : Bactériologie-Virologie
Mme SORDET Christelle M0069		• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital de Hautepeirre	50.01 Rhumatologie
TALHA Samy M0070		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option clinique)
Mme TALON Isabelle M0039		• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Infantile / Hôpital Hautepeirre	54.02 Chirurgie Infantile
TELETIN Marius M0071		• Pôle de Biologie - Service de Biologie de la Reproduction / CMCO Schiltgheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
Mme URING-LAMBERT Béatrice M0073		• Institut d'Immunologie / HC • Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
VALLAT Laurent M0074		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie Biologique - Hôpital de Hautepeirre	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
Mme VELAY-RUSCH Aurélie M0128		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital Civil	45.01 Bactériologie-Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie-Virologie biologique
Mme VILLARD Odile M0076		• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Fac	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme WOLF Michèle M0010		• Chargé de mission - Administration générale - Direction de la Qualité / Hôpital Civil	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
Mme ZALOSZYC-Artane ép. MARCANTONI M0116		• Pôle Médico-Chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Hautepeirre	54.01 Pédiatrie
ZOLL Joffrey M0077		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / HC	44.02 Physiologie (option clinique)

B2 - PROFESSEURS DES UNIVERSITES (monoappartenant)

Pr BONAHE Christian	P0166	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72. Epistémologie - Histoire des sciences et des techniques
Mme la Pr RASMUSSEN Anne	P0166	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72. Epistémologie - Histoire des Sciences et des techniques

B3 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (monoappartenant)

Mr KESSEL Nils		Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72. Epistémologie - Histoire des Sciences et des techniques
Mr LANDRE Lionel		ICUBE-UMR 7357 - Equipe IMIS / Faculté de Médecine	69. Neurosciences
Mme THOMAS Marion		Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72. Epistémologie - Histoire des Sciences et des techniques
Mme SCARFONE Marianna	M0062	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72. Epistémologie - Histoire des Sciences et des techniques

B4 - MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme CHAMBE Juliette	M0108	Département de Médecine générale / Faculté de Médecine	53.03 Médecine générale (01.09.15)
---------------------	-------	--	------------------------------------

C - ENSEIGNANTS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE
C1 - PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)

Pr Ass. GRIES Jean-Luc	M0084	Médecine générale (01.09.2017)
Pr GUILLOU Philippe	M0089	Médecine générale (01.11.2013 au 31.08.2016)
Pr HILD Philippe	M0090	Médecine générale (01.11.2013 au 31.08.2016)

C2 - MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE - TITULAIRE

Dre CHAMBE Juliette	M0108	53.03 Médecine générale (01.09.2015)
Dr LORENZO Mathieu		

C3 - MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)

Dre BERTHOU anne	M0109	Médecine générale (01.09.2015 au 31.08.2018)
Dr BREITWILLER-DUMAS Claire		Médecine générale (01.09.2016 au 31.08.2019)
Dr ROUGERIE Fabien	M0097	Médecine générale (01.09.2014 au 31.08.2017)
Dr SANSELME Anne-Elisabeth		Médecine générale

D - ENSEIGNANTS DE LANGUES ETRANGERES
D1 - PROFESSEUR AGREGE, PRAG et PRCE DE LANGUES

Mme ACKER-KESSLER Pia	M0085	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.03)
Mme CANDAS Peggy	M0086	Professeure agrégée d'Anglais (depuis le 01.09.99)
Mme SIEBENBOUR Marie-Noëlle	M0087	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.11)
Mme JUNGER Nicole	M0088	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.09)
Mme MARTEN Susanne	M0088	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.14)

E - PRATICIENS HOSPITALIERS - CHEFS DE SERVICE NON UNIVERSITAIRES

Dr ASTRUC Dominique	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Serv. de Néonatalogie et de Réanimation néonatale (Pédiatrie 2) / Hôpital de Hauteplerre
Dr ASTRUC Dominique (par intérim)	NRP0 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Réanimation pédiatrique spécialisée et de surveillance continue / Hôpital de Hauteplerre
Dr CALVEL Laurent	NRP0 CS	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Soins Palliatifs / NHC et Hôpital de Hauteplerre
Dr DELPLANOQ Hervé	NRP0 CS	- SAMU-SMUR
Dr GARBIN Olivier	CS	- Service de Gynécologie-Obstétrique / CMCO Schiltigheim
Dre GAUGLER Elise	NRP0 CS	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - UCSA - Centre d'addictologie / Nouvel Hôpital Civil
Dre GERARD Bénédicte	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Département de génétique / Nouvel Hôpital Civil
Mme GOURIEUX Bénédicte	RP0 CS	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Service de Pharmacie-Stérilisation / Nouvel Hôpital Civil
Dr KARCHER Patrick	NRP0 CS	• Pôle de Gériatrie - Service de Soins de suite de Longue Durée et d'hébergement gériatrique / EHPAD / Hôpital de la Robertsau
Pr LESSINGER Jean-Marc	NRP0 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biologie et biologie moléculaire / Nouvel Hôpital Civil + Hauteplerre
Mme Dre LICHTBLAU Isabelle	NRP0 Resp	• Pôle de Biologie - Laboratoire de biologie de la reproduction / CMCO de Schiltigheim
Mme Dre MARTIN-HUNYADI Catherine	NRP0 CS	• Pôle de Gériatrie - Secteur Evaluation / Hôpital de la Robertsau
Dr NISAND Gabriel	RP0 CS	• Pôle de Santé Publique et Santé au travail - Service de Santé Publique - DIM / Hôpital Civil
Dr REY David	NRP0 CS	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - «Le trait d'union» - Centre de soins de l'infection par le VIH / Nouvel Hôpital Civil
Dr TCHOMAKOV Dimitar	NRP0 CS	• Pôle Médico-chirurgical de Pédiatrie - Service des Urgences Médico-Chirurgicales pédiatriques - HP
Mme Dre TEBACHER-ALT Martine	NRP0 NCS Resp	• Pôle d'Activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Maladies vasculaires et Hypertension - Centre de pharmacovigilance / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre Tournoud Christine	NRP0 CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipolison - Centre Antipolison-Toxicovigilance / Nouvel Hôpital Civil

F1 - PROFESSEURS ÉMÉRITES

- o *de droit et à vie (membre de l'Institut)*
CHAMBON Pierre (Biochimie et biologie moléculaire)
MANDEL Jean-Louis (Génétique et biologie moléculaire et cellulaire)
- o *pour trois ans (1er septembre 2017 au 31 août 2020)*
BELLOCQ Jean-Pierre (Anatomie Cytologie pathologique)
CHRISTMANN Daniel (Maladies Infectieuses et tropicales)
MULLER André (Thérapeutique)
- o *pour trois ans (1er septembre 2018 au 31 août 2021)*
Mme DANION-GRILLIAT Anne (Pedopsychiatrie, addictologie)
- o *pour trois ans (1er avril 2019 au 31 mars 2022)*
Mme STEIB Annick (Anesthésie, Réanimation chirurgicale)
- o *pour trois ans (1er septembre 2019 au 31 août 2022)*
DUFOUR Patrick (Cancérologie clinique)
NISAND Israël (Gynécologie-obstétrique)
PINGET Michel (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques)
Mme QUOIX Elisabeth (Pneumologie)

F2 - PROFESSEUR des UNIVERSITES ASSOCIE (mi-temps)

M. SOLER Luc CNU-31 IRCAD (01.09.2009 - 30.09.2012 / renouvelé 01.10.2012-30.09.2015-30.09.2021)

F3 - PROFESSEURS CONVENTIONNÉS* DE L'UNIVERSITE

Dr BRAUN Jean-Jacques	ORL (2012-2013 / 2013-2014 / 2014-2015 / 2015-2016)
Pr CHARRON Dominique	Université Paris Diderot (2016-2017 / 2017-2018)
Mme GUI Yali	(Shaanxi/Chine) (2016-2017)
Mme Dre GRAS-VINCENDON Agnès	Pedopsychiatrie (2010-2011 / 2011-2012 / 2013-2014 / 2014-2015)
Dr JENNY Jean-Yves	Chirurgie orthopédique (2014-2015 / 2015-2016 / 2016-2017 / 2017-2018)
Mme KIEFFER Brigitte	IGBMC (2014-2015 / 2015-2016 / 2016-2017)
Dr KINTZ Pascal	Médecine Légale (2016-2017 / 2017-2018)
Dr LAND Walter G.	Immunologie (2013-2014 à 2015-2016 / 2016-2017)
Dr LANG Jean-Philippe	Psychiatrie (2015-2016 / 2016-2017 / 2017-2018)
Dr LECOCQ Jehan	IURC - Clémenceau (2016-2017 / 2017-2018)
Dr REIS Jacques	Neurologie (2017-2018)
Pr REN Guo Sheng	(Chongqing / Chine) / Oncologie (2014-2015 à 2016-2017)
Dr RICCO Jean-Baptiste	CHU Poitiers (2017-2018)

(* 4 années au maximum)

G1 - PROFESSEURS HONORAIRES

ADLOFF Michel (Chirurgie digestive) / 01.09.94	KUNTZMANN Francis (Gériatrie) / 01.09.07
BABIN Serge (Orthopédie et Traumatologie) / 01.09.01	KURTZ Daniel (Neurologie) / 01.09.98
BAREISS Pierre (Cardiologie) / 01.09.12	LANG Gabriel (Orthopédie et traumatologie) / 01.10.98
BATZENSCHLAGER André (Anatomie Pathologique) / 01.10.95	LANG Jean-Marie (Hématologie clinique) / 01.09.11
BAUMANN René (Hépatogastro-entérologie) / 01.09.10	LANGER Bruno (Gynécologie) / 01.11.19
BERGERAT Jean-Pierre (Cancérologie) / 01.01.16	LEVY Jean-Marc (Pédiatrie) / 01.10.95
BERTHEL Marc (Gériatrie) / 01.09.18	LONSDORFER Jean (Physiologie) / 01.09.10
BIENTZ Michel (Hygiène Hospitalière) / 01.09.04	LUTZ Patrik (Pédiatrie) / 01.09.16
BLICKLE Jean-Frédéric (Médecine Interne) / 15.10.17	MAILLOT Claude (Anatomie normale) / 01.09.03
BLOCH Pierre (Radiologie) / 01.10.95	MAITRE Michel (Biochimie et biol. moléculaire) / 01.09.13
BOURJAT Pierre (Radiologie) / 01.09.03	MANDEL Jean-Louis (Génétique) / 01.09.16
BOUSQUET Pascal (Pharmacologie) / 01.09.19	MANGIN Patrice (Médecine Légale) / 01.12.14
BRECHENMACHER Claude (Cardiologie) / 01.07.99	MANTZ Jean-Marie (Réanimation médicale) / 01.10.94
BRETTES Jean-Philippe (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.10	MARESCAUX Christian (Neurologie) / 01.09.19
BROGARD Jean-Marie (Médecine Interne) / 01.09.02	MARESCAUX Jacques (Chirurgie digestive) / 01.09.16
BURGHARD Guy (Pneumologie) / 01.10.86	MARK Jean-Joseph (Biochimie et biologie cellulaire) / 01.09.99
BURSZTEJN Claude (Pédopsychiatrie) / 01.09.18	MESSER Jean (Pédiatrie) / 01.09.07
CANTINEAU Alain (Médecine et Santé au travail) / 01.09.15	MEYER Christian (Chirurgie générale) / 01.09.13
CAZENAVE Jean-Pierre (Hématologie) / 01.09.15	MEYER Pierre (Biostatistiques, Informatique méd.) / 01.09.10
CHAMPY Maxime (Stomatologie) / 01.10.95	MINCK Raymond (Bactériologie) / 01.10.93
CHAUVIN Michel (Cardiologie) / 01.09.18	MONTEIL Henri (Bactériologie) / 01.09.11
CHINQUALBRE Jacques (Chirurgie générale) / 01.10.12	MORAND Georges (Chirurgie thoracique) / 01.09.09
CLAVERT Jean-Michel (Chirurgie infantile) / 31.10.16	MOSSARD Jean-Marie (Cardiologie) / 01.09.09
COLLARD Maurice (Neurologie) / 01.09.00	OUDET Pierre (Biologie cellulaire) / 01.09.13
CONRAUX Claude (Oto-Rhino-Laryngologie) / 01.09.98	PASQUALI Jean-Louis (Immunologie clinique) / 01.09.15
CONSTANTINESCO André (Biophysique et médecine nucléaire) / 01.09.11	PATRIS Michel (Psychiatrie) / 01.09.15
DIETEMANN Jean-Louis (Radiologie) / 01.09.17	Mme PAULI Gabrielle (Pneumologie) / 01.09.11
DOFFOEL Michel (Gastroentérologie) / 01.09.17	POTTECHER Thierry (Anesthésie-Réanimation) / 01.09.18
DUCLOS Bernard (Hépatogastro-Hépatologie) / 01.09.19	REYS Philippe (Chirurgie générale) / 01.09.98
DUPEYRON Jean-Pierre (Anesthésiologie-Réa.Chir.) / 01.09.13	RITTER Jean (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.02
EISENMANN Bernard (Chirurgie cardio-vasculaire) / 01.04.10	RUMPLER Yves (Biol. développement) / 01.09.10
FABRE Michel (Cytologie et histologie) / 01.09.02	SANDNER Guy (Physiologie) / 01.09.14
FISCHBACH Michel (Pédiatrie) / 01.10.16	SAUVAGE Paul (Chirurgie Infantile) / 01.09.04
FLAMENT Jacques (Ophtalmologie) / 01.09.09	SCHAFF Georges (Physiologie) / 01.10.95
GAY Gérard (Hépatogastro-entérologie) / 01.09.13	SCHLAEDER Guy (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.01
GERLINGER Pierre (Biol. de la Reproduction) / 01.09.04	SCHLIENGER Jean-Louis (Médecine Interne) / 01.08.11
GRENIER Jacques (Chirurgie digestive) / 01.09.97	SCHRAUB Simon (Radiothérapie) / 01.09.12
GROSSHANG Edouard (Dermatologie) / 01.09.03	SCHWARTZ Jean (Pharmacologie) / 01.10.87
GRUCKER Daniel (Biophysique) / 01.09.18	SICK Henri (Anatomie Normale) / 01.09.06
GUT Jean-Pierre (Virologie) / 01.09.14	STIERLE Jean-Luc (ORL) / 01.09.10
HASSELMANN Michel (Réanimation médicale) / 01.09.18	STOLL Claude (Génétique) / 01.09.09
HAUPTMANN Georges (Hématologie biologique) / 01.09.06	STOLL-KELLER Françoise (Virologie) / 01.09.15
HEID Ernest (Dermatologie) / 01.09.04	STORCK Daniel (Médecine Interne) / 01.09.03
IMBS Jean-Louis (Pharmacologie) / 01.09.09	TEMPE Jean-Daniel (Réanimation médicale) / 01.09.06
IMLER Marc (Médecine Interne) / 01.09.98	TONGIO Jean (Radiologie) / 01.09.02
JACQUIN Didier (Urologie) / 09.08.17	TREISSER Alain (Gynécologie-Obstétrique) / 24.03.08
JAECK Daniel (Chirurgie générale) / 01.09.11	VAUTRAVERS Philippe (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.16
JAEGER Jean-Henri (Chirurgie orthopédique) / 01.09.11	VETTER Jean-Marie (Anatomie pathologique) / 01.09.13
JESEL Michel (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.04	VINCENDON Guy (Biochimie) / 01.09.08
KAHN Jean-Luc (Anatomie) / 01.09.18	WALTER Paul (Anatomie Pathologique) / 01.09.09
KEHR Pierre (Chirurgie orthopédique) / 01.09.06	WEITZENBLUM Emmanuel (Pneumologie) / 01.09.11
KEMPF Jules (Biologie cellulaire) / 01.10.95	WILHM Jean-Marie (Chirurgie thoracique) / 01.09.13
KRETZ Jean-Georges (Chirurgie vasculaire) / 01.09.18	WILK Astrid (Chirurgie maxillo-faciale) / 01.09.15
KRIEGER Jean (Neurologie) / 01.01.07	WILLARD Daniel (Pédiatrie) / 01.09.96
KUNTZ Jean-Louis (Rhumatologie) / 01.09.08	WOLFRAM-GABEL Renée (Anatomie) / 01.09.96

Légende des adresses :

FAC : Faculté de Médecine : 4, rue Kirschleger - F - 67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.68.85.35.20 - Fax : 03.68.85.35.18 ou 03.68.85.34.67

HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG (HUS) :

- NHC : *Nouvel Hôpital Civil* : 1, place de l'Hôpital - B.P. 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.69.55.07.08

- HC : *Hôpital Civil* : 1, Place de l'Hôpital - B.P. 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.67.68

- HP : *Hôpital de Hautepierre* : Avenue Molière - B.P. 49 - F - 67098 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.12.80.00

- *Hôpital de La Robertsau* : 83, rue Himmerich - F - 67015 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.55.11

- *Hôpital de l'Elsau* : 15, rue Cranach - 67200 Strasbourg - Tél. : 03.88.11.67.68

CMCO - Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical : 19, rue Louis Pasteur - BP 120 - Schiltigheim - F - 67303 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.62.83.00

C.C.O.M. - Centre de Chirurgie Orthopédique et de la Main : 10, avenue Baumann - B.P. 96 - F - 67403 Illkirch Graffenstaden Cedex - Tél. : 03.88.55.20.00

E.F.S. : Etablissement Français du Sang - Alsace : 10, rue Spielmann - BP N°36 - 67065 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.21.25.25

Centre Régional de Lutte contre le cancer "Paul Strausz" - 3, rue de la Porte de l'Hôpital - F-67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.25.24.24

IURC - Institut Universitaire de Réadaptation Clemenceau - CHU de Strasbourg et UGECAM (Union pour la Gestion des Etablissements des Caisses d'Assurance Maladie) - 45 boulevard Clemenceau - 67082 Strasbourg Cedex

**RESPONSABLE DE LA BIBLIOTHÈQUE DE MÉDECINE ET ODONTOLOGIE ET DU
DÉPARTEMENT SCIENCES, TECHNIQUES ET SANTÉ
DU SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG**

Monsieur Olivier DIVE, Conservateur

**LA FACULTÉ A ARRÊTÉ QUE LES OPINIONS ÉMISES DANS LES DISSERTATIONS
QUI LUI SONT PRÉSENTÉES DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES
À LEURS AUTEURS ET QU'ELLE N'ENTEND NI LES APPROUVER, NI LES IMPROUVER**

Serment d'Hippocrate

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Être suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admise à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Respectueuse et reconnaissante envers mes maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis restée fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Docteur Alice EISCHEN d'avoir accepté de me diriger pour ce travail. Merci pour le temps que tu m'as consacré et pour tous tes conseils. Soit assurée de ma reconnaissance.

Je remercie le Professeur Laurent MAUVIEUX d'avoir accepté d'être le président de ce jury, et de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la réalisation de ce travail de thèse. Soyez assuré de mon profond respect.

Je souhaite également remercier les membres de mon jury, les Professeurs Jean-Marc LESSINGER et Emmanuel ANDRES, et le Docteur Irina ENACHE, d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assurés de ma reconnaissance.

Je veux remercier le Docteur Laurie MONIER de m'avoir aidée et conseillée dans la réalisation du dossier de validation de méthode, et d'avoir été disponible pour m'expliquer certaines notions de statistiques.

Je tiens à remercier les techniciennes du laboratoire d'hématologie des HUS d'avoir participé à la réalisation de ce travail. J'ai beaucoup apprécié travailler à nouveau avec vous à cette occasion.

Un grand merci à mes co-internes d'hématologie : Guilaine, Marion, Adrien et Thomas, mais aussi Sarah et Lucie. Ce semestre avec vous a été très agréable malgré le contexte sanitaire.

Je tiens également à remercier mes collègues de l'EFS. Merci énormément pour votre soutien qui m'a aidé à garder le moral et à tenir jusqu'au bout de ce marathon.

Un grand merci à Magali : tu as toujours été disponible pour m'encourager et me donner de bons conseils, et tu as toute ma gratitude. Merci à Cécilia pour ton écoute et toutes ces années d'amitié, en espérant qu'elle dure encore longtemps. Merci à David pour tous ces bons moments ingame qui m'ont toujours permis de décompresser, j'espère qu'il y en aura bien d'autres à l'avenir.

Merci à mes parents qui m'ont toujours soutenue durant mes études de médecine : rien n'aurait été possible sans vous. Merci à papa d'avoir corrigé mon manuscrit. J'ai une pensée particulière pour papy Alfred, à qui je voulais montrer l'aboutissement de ces dix longues années d'étude, mais qui nous a quitté avant que j'en aie l'occasion. Un grand merci également à mon parrain Patrick.

Pour finir j'adresse un immense merci à Jérémy, mon compagnon, qui a été un soutien indéfectible depuis le début de ce périple en médecine. Sans toi tout serait différent et je n'aurais peut-être pas eu le courage de persévérer jusqu'au bout. Merci mille fois.

Table des matières

INTRODUCTION	22
1. LIQUIDE PLEURAL.....	26
1.1. Rappels	26
1.2. Epidémiologie	27
1.3. Aspects cliniques	28
1.4. Diagnostic radiologique	29
1.5. Ponction pleurale.....	30
1.6. Diagnostic biologique	32
1.6.1. Analyses hématologiques.....	32
1.6.1.1. Aspect macroscopique.....	32
1.6.1.2. Numération et cytologie	33
1.6.2. Analyses biochimiques	36
1.6.2.1. Marqueurs de différenciation exsudat/transsudat	36
1.6.2.2. Autres marqueurs	37
1.6.3. Analyses microbiologiques.....	38
1.6.4. Anatomopathologie	39
1.7. Cas particulier du fœtus et du nouveau-né.....	39
2. LIQUIDE D'ASCITE.....	41
2.1. Rappels	41
2.2. Epidémiologie	42
2.3. Aspects cliniques	43
2.4. Diagnostic radiologique	45
2.5. Ponction abdominale.....	45
2.6. Diagnostic biologique	46
2.6.1. Analyses hématologiques.....	47
2.6.1.1. Aspect macroscopique.....	47
2.6.1.2. Numération et analyse cytologique.....	47
2.6.2. Analyses biochimiques	49
2.6.3. Analyses bactériologiques.....	50
2.6.4. Anatomopathologie	51

3.	ANALYSE AU LABORATOIRE D'HÉMATOLOGIE	52
3.1.	Présentation du laboratoire	52
3.2.	Étape pré-analytique	52
3.3.	Analyses en technique manuelle.....	53
3.3.1.	Généralités	53
3.3.2.	Numération cellulaire.....	54
3.3.3.	Formule leucocytaire et morphologie cellulaire	56
3.4.	Analyses en technique automatisée	59
3.4.1.	Présentation de l'automate	59
3.4.2.	Cellules nucléées	60
3.4.3.	Hématies	63
3.4.4.	Paramètres de recherche.....	65
3.4.4.1.	Numération des cellules de haute fluorescence	65
3.4.4.2.	Formule leucocytaire	67
4.	VALIDATION DE MÉTHODE	68
4.1.	Rationnel de l'étude	68
4.2.	Dossier de validation de méthode (hors comparaison des méthodes)	70
4.1.	Comparaison des méthodes.....	73
4.1.1.	Paramètres de routine	74
4.1.1.1.	Hématies	75
4.1.1.2.	Cellules nucléées.....	77
4.1.1.3.	Leucocytes.....	79
4.1.1.4.	PMN et MN	81
4.1.2.	Paramètres de recherche.....	84
4.1.2.1.	Formule leucocytaire	84
4.1.2.2.	Cellules de haute fluorescence.....	88
5.	DESCRIPTION DE LA COHORTE DE PATIENTS.....	92
5.1.	Liquide pleural	92
5.1.1.	Contexte de néoplasie.....	93
5.1.2.	Contexte infectieux	97
5.1.3.	Contexte de pathologie digestive	98
5.1.4.	Autres contextes	99
5.2.	Liquide d'ascite.....	101
5.2.1.	Contexte de cirrhose et de ses complications	101

5.2.2. Contexte néoplasique (non-CHC).....	103
5.2.3. Autres contextes	104
6. DISCUSSION.....	106
CONCLUSION	115
ANNEXE 1 : Synthèse des analyses statistiques	117
ANNEXE 2 : Données de la comparaison de méthode.....	119
ANNEXE 3 : Données clinico-biologiques des patients	124

Table des illustrations

TABLEAUX

Tableau 1 : Étiologies des épanchements pleuraux.....	28
Tableau 2 : Orientation selon l'aspect macroscopique.....	33
Tableau 3 : Orientation diagnostique selon la formule	36
Tableau 4 : critères de Light modifiés	36
Tableau 5 : Étiologie des ascites.....	43
Tableau 6 : Orientation diagnostique selon l'aspect du liquide	47
Tableau 7 : Orientation diagnostique selon le gradient d'albumine	49
Tableau 8 : Variabilité inter-opérateur de la numération en technique manuelle	56
Tableau 9 : Avantages et inconvénients des types de techniques	68
Tableau 10 : Étude de la répétabilité de la technique automatisée.....	71
Tableau 11 : Étude de la fidélité intermédiaire de la technique automatisée	71
Tableau 12 : Étude de la justesse de la technique automatisée.....	72
Tableau 13 : Étude de l'exactitude de la technique automatisée	72
Tableau 14 : Résumé des patients avec biais de mesure importants.....	90
Tableau 15 : Numération WBC et HF des liquides présentant des métastases.....	91

FIGURES

Figure 1 : Épanchement pleural droit	30
Figure 2 : Prescription des analyses biologiques	32
Figure 3 : Prescription des analyses biologiques	46
Figure 4 : Cellule de comptage Kova® Glasstic® Slide 10.....	55
Figure 5 : Éléments séparés et montage de la lame de verre entre cytocuvette et Cytoclip..	57
Figure 6 : Représentation physique du canal WDF.....	61
Figure 7 : Caméras du canal WDF.....	61
Figure 8 : Représentation graphique de la numération-formule des TC par diffraction optique en fluorescence et cytométrie en flux	62
Figure 9 : Interférence automate de la numération des TC par des débris cellulaires	63
Figure 10 : Focalisation hydrodynamique	63
Figure 11 : Représentation physique du canal RBC/PLT	64
Figure 12 : Histogramme de volume des RBC.....	64

Figure 13 : Histogramme de volume des RBC présentant une interférence	65
Figure 14 : Zone HF-BF sur l'écran de recherche de l'E-IPU.....	66
Figure 15 : Scattergram des TC (routine et recherche).....	66
Figure 16 : Flow-chart des échantillons pour la numération des RBC.....	76
Figure 17 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des RBC...	77
Figure 18 : Flow-chart des échantillons pour la numération des TC	78
Figure 19 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des TC.....	79
Figure 20 : Flow-chart des échantillons pour la numération des WBC.....	80
Figure 21 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des WBC .	81
Figure 22 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la formule leucocytaire approchée	83
Figure 23 : Flow-chart des échantillons pour la formule leucocytaire	84
Figure 24 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la formule leucocytaire ..	86
Figure 25 : Flow-chart des échantillons pour les cellules de haute fluorescence	89
Figure 26 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman des cellules de haute fluorescence	90
Figure 27 : cellules métastatiques d'ADK pulmonaire	93
Figure 28 : amas cohésifs et cellules isolées métastatiques de cholangiocarcinome	94
Figure 29 : Lymphocytes lymphoplasmocytaires	94
Figure 30 : Graphique automate du patient 7	96
Figure 31 : Graphique automate TC/WBC de la patiente 45	104
Figure 32 : Prise en charge des liquides au laboratoire d'hématologie des HUS	114

Abréviations

AP : anatomo-pathologie
BAAR : bacille acido-alcoolrésistant
CHC : carcinome hépato-cellulaire
CM : cellules mésothéliales
CMF : cytométrie en flux
CQI : contrôle de qualité interne
CV : coefficient de variation
ED : examen direct
ET : écart-type
HUS : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
ISLA : infection spontanée du liquide d'ascite
LCR : Liquide céphalo-rachidien
LDH : lactate déshydrogénase
LY : lymphocytes
MGG : May-Grünwald Giemsa
MM : monomacrophage
MON : monocytes
NFS : numération formule sanguine
NHC : Nouvel Hôpital Civil
PBS : péritonite bactérienne secondaire
PCR : Polymerase Chain Reaction
PNB : polynucléaire basophile
PNE : polynucléaire éosinophile
PNN : polynucléaire neutrophile
RBC : hématies
TB : tuberculose
TC : cellules nucléées
TDM : tomodensitométrie
WBC : leucocytes
WDF : WBC Differential channel
WNR : White cell Nucleated channel

INTRODUCTION

Les liquides d'épanchement, dont font partie les liquides pleuraux et les liquides d'ascite, sont des manifestations non spécifiques et pathologiques. Ils apparaissent chez des patients atteints de pathologies diverses, et concernent de nombreuses spécialités médicales (hépatologie, pneumologie, hématologie, infectiologie...). Le bilan diagnostique à la recherche de l'origine d'un liquide d'épanchement repose sur la clinique, l'imagerie et la biologie. Il comprend l'analyse du liquide au laboratoire d'analyses de biologie médicale, en particulier d'hématologie, afin d'obtenir des informations sur la composition cellulaire (ou cellularité) du prélèvement.

Le liquide céphalo-rachidien (LCR) et les liquides d'épanchement contiennent physiologiquement des cellules nucléées (Total nucleated Cells, TC), représentées par des leucocytes (White Blood Cells, WBC) et des cellules de revêtement. Ces dernières sont des cellules mésothéliales (CM) dans les liquides pleuraux et les ascites, des synoviocytes dans les liquides articulaires, des cellules épendymaires dans le LCR. En cas de maladie inflammatoire on observe un afflux important de WBC dans les liquides biologiques, et en cas de néoplasie des cellules malignes peuvent également y migrer. C'est ainsi que la numération et le décompte différentiel (formule) des WBC a une valeur diagnostique importante.

La numération et l'étude morphologique des cellules d'un liquide d'épanchement permettent d'explorer son mécanisme et sa cause, d'une part par la numération cellulaire lorsqu'elle atteint des seuils de significativité clinique, et d'autre part par les types de WBC présents et par la mise en évidence de cellules pathologiques (cellules tumorales ou cellules

d'hémopathies malignes). Cette analyse permet d'obtenir rapidement des informations pertinentes pour la prise en charge du patient.

La technique de référence pour l'analyse des liquides biologiques est une technique dite « manuelle » (pas d'intervention d'un automate). La numération des hématies (Red Blood Cells, RBC) et des WBC est réalisée par examen direct (ED) en microscopie optique à l'aide d'une cellule de comptage. Le décompte différentiel des WBC et l'étude morphologique des cellules du liquide sont réalisés en microscopie optique après coloration au May Grünwald Giemsa (MGG) de l'échantillon apposé par centrifugation sur une lame en verre (cyto-centrifugation). Cette technique présente une variabilité inter-opérateur qui peut être importante, amenant parfois à surestimer ou sous-estimer un résultat. Ces variations peuvent avoir un impact sur la prise en charge du patient par méconnaissance d'un diagnostic ou un diagnostic erroné. De plus il s'agit d'une technique chronophage et contraignante à réaliser, nécessitant du personnel entraîné, avec un délai de rendu de résultat pouvant être incompatible avec l'urgence.

Depuis quelques années, les fabricants d'automates de numération sanguine (hématimètres automatisés) développent des modules spécialement dédiés à l'analyse des liquides biologiques pour leurs automates, tels que les Sysmex XN-1000 (Sysmex®, Kobe, Japon), Mindray BC-6800 (Mindray®, Shenzhen, Chine), Siemens Advia 2120i (Siemens®, Munich, Allemagne), Abbott Cell-Dyn Sapphire (Abbott®, Chicago, États-Unis), Horiba ABX Pentra DX120 (Horiba®, Kyoto, Japon) (1). Ces modules permettent une numération précise des RBC et des WBC (par impédance et cytométrie en flux pour Sysmex) mais manquent encore de précision quant aux faibles cellularités, à la formule différentielle des WBC et à la quantification des cellules pathologiques et des cellules de revêtement. Cela constitue à

l'heure actuelle la limitation majeure à leur utilisation (2). Par ailleurs des interférences par des particules non cellulaires (par exemple des cristaux dans les liquides articulaires) et des amas de cellules peuvent fausser le décompte et l'identification cellulaire. Le laboratoire d'hématologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) est équipé, pour l'analyse en routine des échantillons de sang, d'une chaîne Sysmex® XN-9000 composée de trois hématimètres XN dont l'un est équipé du module XN-BF (XN-Body Fluid), et d'un étaleur-colorateur SP-50.

Dans un laboratoire tel que le nôtre, rattaché à un Centre Hospitalier Universitaire, la quantité de liquides biologiques reçus chaque jour est importante et les résultats sont rendus 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7. Les liquides sont également adressés en bactériologie (rendu d'une numération des RBC et WBC uniquement, sans identification cellulaire précise) et/ou en anatomo-pathologie (AP) (pas de numération sauf pour les lavages broncho-alvéolaires, pas de résultats en urgence). L'automatisation de la numération des liquides serait un apport intéressant, par l'augmentation de la cadence d'analyse, la facilité d'utilisation et la fiabilité du résultat, tout en réduisant la charge de travail des techniciens de laboratoire. Plusieurs études relayées par Sandhaus (3) ont montré que le gain de temps lié à l'automatisation de l'analyse des liquides biologiques pouvait aller jusqu'à un facteur 7.5 (635 vs 85 secondes), ce qui serait à l'origine d'une réduction des coûts (1.22 € pour l'analyse automatisée contre 6.74 € pour l'analyse manuelle).

Notre travail avait pour but d'évaluer la technique automatisée de numération des liquides d'épanchement sur notre hématimètre XN (Sysmex®) équipé du module spécifique XN-BF, au regard de la littérature et comparativement à la méthode manuelle actuellement utilisée en routine au laboratoire d'hématologie des HUS. Nous nous sommes spécifiquement intéressés

aux liquides pleuraux et d'ascite car ces liquides sont adressés en quantité importante à notre laboratoire. Nous n'avons pas inclus les LCR, part importante des liquides qui nous sont adressés, car le module XN-BF n'est actuellement pas adapté à des liquides très peu cellulaires. Par ailleurs, nous avons étudié les différentes situations clinico-biologiques des patients dont nous avons utilisé les échantillons pour la comparaison de méthode, dans le but de mieux caractériser l'activité de routine du laboratoire d'hématologie des HUS et d'optimiser l'utilisation de la technique automatisée. Ce travail est enregistré sous le n°20-081 au registre des traitements de données des HUS.

1. LIQUIDE PLEURAL

1.1. Rappels

La plèvre est une membrane séreuse composée de deux feuillets en continuité l'un de l'autre au niveau des hiles pulmonaires, couvrant les poumons (feuillet viscéral), la paroi thoracique, le diaphragme et le médiastin (feuillet pariétal) et délimitant un espace pleural de 20 µm. Ces feuillets sont constitués d'une matrice de tissu interstitiel et d'une monocouche de CM, formant de nombreuses microvillosités qui se projettent dans l'espace pleural et sécrètent de l'acide hyaluronique qui fait office de lubrifiant entre les deux feuillets pleuraux (4). La plèvre viscérale produit deux litres de liquide par jour dont la majorité est résorbée par la plèvre pariétale vers le système lymphatique à travers les pores de Wang. Cette résorption est adaptative et peut être multipliée jusqu'à 20 fois en cas d'augmentation de production de liquide pleural ; son dysfonctionnement est la cause la plus commune de formation d'un épanchement pleural (5). Chaque cavité pleurale contient 2 à 5 mL de liquide (chez un adulte de 70 kg) physiologiquement composé de 15 g/L de protéines et de 1500 à 4500 cellules par mL (majorité de macrophages, ± 25% de lymphocytes (LY) et 1-2% de CM décrochées de la paroi) (6)(7)(8).

Les notions de transsudat et exsudat, différenciés par les critères de Light modifiés de 1995 (9) et basées sur des paramètres de biochimie, sont une première approche pour déterminer la cause d'un épanchement. Un transsudat est un épanchement causé par une modification des pressions hydrostatique et/ou oncotique, dont la cause est le plus souvent extra-pulmonaire. Un exsudat est un épanchement causé par l'augmentation de la perméabilité capillaire à l'origine du passage accru de liquide et de composés plasmatiques dans l'espace pleural, dont la cause est le plus souvent inflammatoire ou néoplasique (5).

En cas d'atteinte pleurale les CM participent activement à l'inflammation par la sécrétion de médiateurs et protéines (collagène, interleukine 8, PDGF ou Platelet-Derived Growth Factor, inhibiteur de l'activateur du plasminogène...), associée à une infiltration du liquide pleural par des cellules inflammatoires incluant polynucléaires neutrophiles (PNN), polynucléaires éosinophiles (PNE), LY, monocytes (MON) et cellules plasmocytaires dans des proportions différentes.

La classification en transsudat ou en exsudat à l'aide de paramètres biochimiques est affinée par une classification en fonction de la cellularité du liquide : ces approches sont complémentaires.

1.2. Epidémiologie

Les causes d'épanchement pleural sont variées avec plus de 50 causes décrites dans la littérature (5). Les pathologies les plus représentées en termes de fréquence sont les néoplasies, l'insuffisance cardiaque congestive, les infections et l'embolie pulmonaire (6).

Les transsudats (Tableau 1) sont causés dans 80% des cas par l'insuffisance cardiaque congestive, mais surviennent également dans des contextes tels que la cirrhose, l'hypoalbuminémie (< 15 g/L) ou la dialyse péritonéale. On retrouve plus rarement l'hypothyroïdie, le syndrome néphrotique, la péricardite constrictive, l'urinothorax ou le syndrome de Demons-Meig (5).

Les causes d'exsudat (Tableau 1) sont principalement les infections et les néoplasies. Les pleurésies malignes sont provoquées par des néoplasies pulmonaires dans 37% des cas, des néoplasies du sein dans 16% des cas, des hémopathies malignes dans 10% des cas et des néoplasies de primitif inconnu dans 10% des cas (5).

Tableau 1 : Étiologies des épanchements pleuraux, adapté de Pastré *et al.* (6) et Ingelfinger *et al.* (7)

Transsudats	Exsudats
Causes fréquentes	
Insuffisance cardiaque congestive Cirrhose Syndrome néphrotique Atélectasie	Néoplasies Tuberculose Atteinte pleurale parapneumonique, empyème Embolie pulmonaire
Causes plus rares	
Hypoalbuminémie Embolie pulmonaire, hypertension pulmonaire, syndrome du « trapped lung » Glomérulonéphrite, dialyse péritonéale Hypothyroïdie, myxœdème Sténose mitrale, atteinte péricardique (péricardite restrictive, ...) Obstruction de la veine cave supérieure Sarcoïdose Dérivation ventriculo-pleurale, migration d'un cathéter veineux central Stimulation ovarienne, syndrome de Demons-Meigs Urinothorax	Syndrome paranéoplasique, lymphome lymphoplasmocytaire Pancréatite, cholécystite, abcès hépatique ou splénique, perforation œsophagienne Atteinte cardiaque ou péricardique Stimulation ovarienne, syndrome de Demons-Meigs, endométriose, postpartum Polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé, syndrome de Sjögren, fièvre méditerranéenne familiale, granulomatose éosinophilique, granulomatose avec polyangéite Traitements médicamenteux, radiothérapie Sarcoïdose, asbestose, syndrome des ongles jaunes, urémie, noyade, amyloïdose, brûlures électriques, syndrome de fuite capillaire, hématoïdose extramédullaire

1.3. Aspects cliniques

L'épanchement pleural est souvent asymptomatique lorsqu'il est de faible abondance (< 500 mL) mais peut également être à l'origine de signes fonctionnels tels qu'une douleur latéro-thoracique d'intensité variable exacerbée par la respiration ou la toux, une toux sèche au changement de position, une dyspnée d'intensité variable selon le volume de l'épanchement et le terrain cardio-respiratoire du patient (10). Il faut rechercher les signes de gravité qui imposent un drainage du liquide en urgence : il s'agit de signes d'infection (fièvre, douleur

pleurale aiguë) voir de choc septique, ou de choc hémorragique. Un épanchement de grand volume, d'autant plus si associé à un terrain d'insuffisance respiratoire, peut entraîner une détresse respiratoire aiguë (polypnée superficielle, tirage, respiration abdominale paradoxale, cyanose, troubles de la conscience...) (11)(12).

À l'examen clinique on peut retrouver un silence auscultatoire, une matité à la percussion, une abolition des vibrations vocales voire un souffle expiratoire, doux et lointain, à la limite supérieure de l'épanchement. Un frottement pleural est audible dans les épanchements de faible abondance ou après évacuation du liquide (6)(10). Le caractère unilatéral ou bilatéral participe à l'orientation étiologique : bilatéral en faveur d'une cause non pleurale et extrapulmonaire à l'inverse du caractère unilatéral plutôt en faveur d'une atteinte pleuropulmonaire (6). À noter que dans le cadre de l'insuffisance cardiaque l'épanchement est bilatéral dans 58% des cas, unilatéral droit dans 27% des cas et unilatéral gauche dans 14% des cas (5). La pleurésie maligne est la cause la plus fréquente d'épanchement pleural majeur (13).

L'interrogatoire doit rechercher des facteurs de risque de tuberculose (TB), une exposition à l'amiante, des signes évocateurs d'infection, de cancer, de maladie auto-immune, de pathologie cardiaque, rénale ou hépatique (14). Tous les traitements du patient doivent être notés avec rigueur car de nombreux médicaments sont à l'origine d'épanchements pleuraux (méthotrexate, amiodarone, phénytoïne, nitrofurantoïne, β -bloquants...) (15).

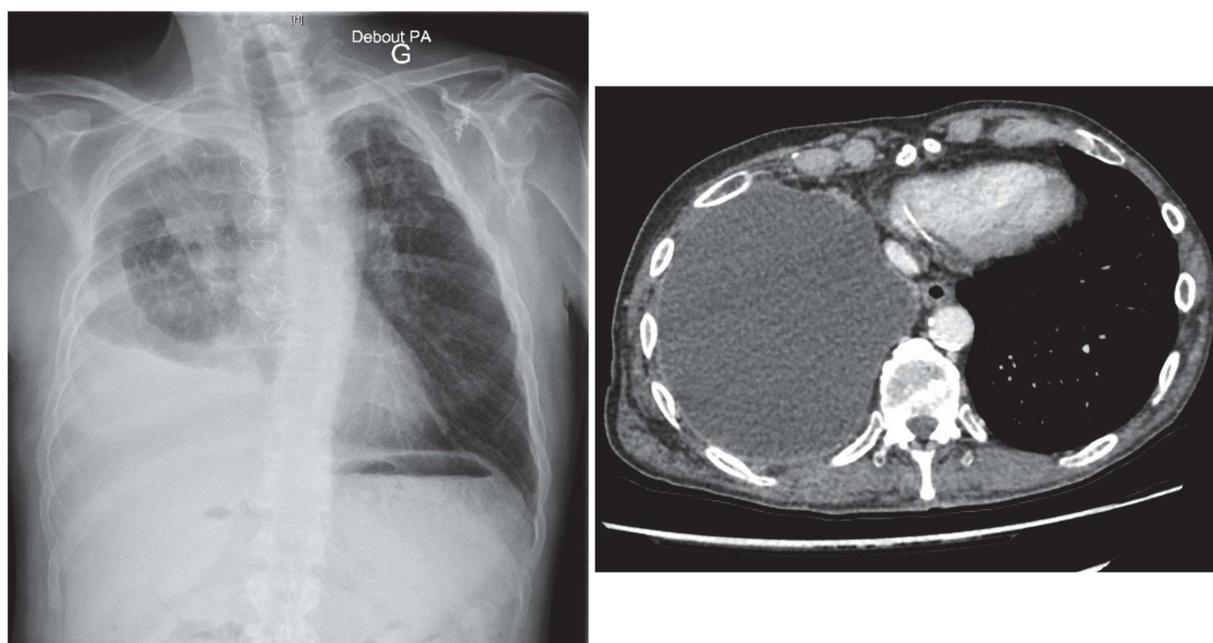
1.4. Diagnostic radiologique

La radiographie thoracique (Figure 1) peut être à l'origine d'une découverte fortuite de l'épanchement : opacité dense et homogène dont la limite supérieure est concave en haut et en dedans voire opacité totale de l'hémithorax en cas d'épanchement majeur (10).

L'échographie pleurale permet une quantification précise du volume de l'épanchement et de son caractère cloisonné ou non (7). Elle est également utile pour guider la ponction du liquide pleural, permettant ainsi de réduire les risques de pneumothorax iatrogène et d'améliorer le rendement en cas d'épanchement cloisonné (6).

La tomodensitométrie (TDM) (Figure 1) montre l'épanchement et peut révéler des signes de néoplasie : nodules pleuraux, épaissement pleural $\geq 1\text{cm}$, épaissement pleural médiastinal ou circonférentiel. Leur absence ne s'oppose pas au diagnostic (14). Un angioscanner thoracique doit être réalisé en cas de suspicion d'embolie pulmonaire.

Figure 1 : Épanchement pleural droit (radiographie thoracique à gauche, TDM thoracique à droite)



1.5. Ponction pleurale

La ponction pleurale n'est pas réalisable lorsque le volume de l'épanchement est trop faible et n'est pas nécessaire lorsque l'épanchement survient dans un contexte évocateur avec cause systémique bien identifiée (5). La British Thoracic Society préconise, dans ses recommandations de 2010 (13), de ne pas réaliser la ponction chez les patients en cas

d'épanchement bilatéral si la clinique est en faveur d'une cause de transsudat, sauf si le tableau est atypique ou le traitement inefficace. Elle n'est pas recommandée chez le patient avec un cancer connu si l'épanchement est asymptomatique (16). Elle est en revanche indispensable chez les autres patients lorsqu'ils sont symptomatiques, et réalisée en urgence s'il y a suspicion d'hémothorax ou d'empyème afin de débiter un traitement adapté dans les meilleurs délais (6)(13).

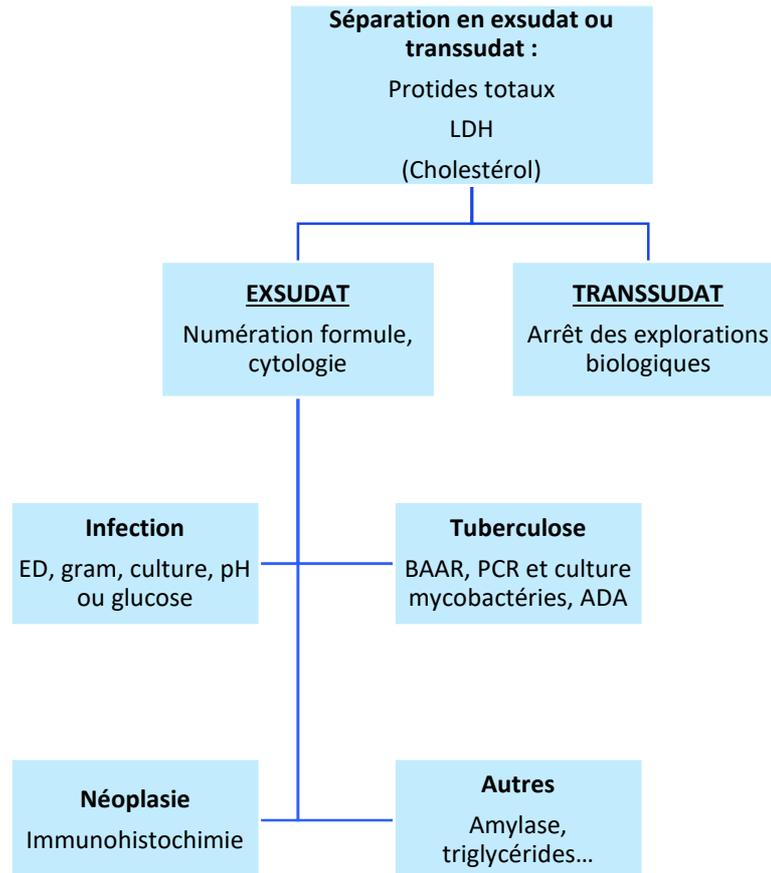
Il est recommandé de réaliser une ponction échoguidée dans toutes les situations car elle améliore les chances de réussite du prélèvement tout en réduisant le risque de ponction d'organe (13). Les contre-indications à la ponction sont la présence de signes de décompensation cardiaque, les troubles de l'hémostase (il n'y a pas de seuils actuellement définis), un épanchement inférieur à 1 cm à l'échographie (ou la radiographie de face en position debout ou en décubitus latéral), une infection au point de ponction.

La ponction est réalisée à l'aide d'un cathéter intraveineux 14G ou 18G et d'une seringue de 50 mL, dans des conditions d'asepsie strictes et après anesthésie locale (lidocaïne). Le patient est assis au bord du lit, légèrement penché en avant (de préférence accoudé à une table), ou en décubitus latéral si non mobilisable. Chez le patient assis, il faut repérer l'emplacement de la transition entre la matité de l'épanchement et la zone libre, et descendre d'un espace intercostal. La ponction doit être réalisée à 3-5 cm de la colonne vertébrale ou sur la ligne axillaire postérieure (17). Faire assoir le patient 15 minutes avant le geste permet de faire sédimenter les cellules dans le cul-de-sac pleural (18).

1.6. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique d'un épanchement pleural suit un cheminement qui varie en fonction des étiologies suspectées, toutes les analyses ne sont pas réalisées systématiquement (13)(19)(Figure 2).

Figure 2 : Prescription des analyses biologiques, adapté de Kopcinovic *et al.* (19)



1.6.1. Analyses hématologiques

1.6.1.1. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique du liquide est un élément d'orientation étiologique (Tableau 2), c'est pourquoi il est systématiquement rapporté sur le compte-rendu d'analyse. L'aspect jaune citrin, le plus souvent retrouvé, est très peu spécifique. Un aspect trouble évoque un

empyème, un aspect laiteux évoque un chylothorax, un aspect séro-hématique oriente plutôt vers une étiologie néoplasique, un aspect hémorragique vers un hémothorax (6).

Tableau 2 : Orientation selon l'aspect macroscopique, adapté de Kopcinovic *et al.* (19)

Apparence	Orientation diagnostique
Clair, jaune, fluide	Transsudat
Trouble, purulent, coagulum	Infection, empyème
Hématique ou hémorragique	Traumatisme, néoplasie, infarctus pulmonaire, rupture d'un anévrisme aortique, tuberculose, pancréatite
Vert clair, trouble	Pleurésie rhumatoïde
Trouble, laiteux et/ou hémorragique	Chylothorax (traumatique, idiopathique)
Laiteux ou vert, aspect métallisé	Pseudochylothorax (pleurésie rhumatoïde chronique, tuberculose) ou fistule pleuro-biliaire
Brun, chocolat	Rupture d'abcès amibien hépatique, épanchement hémorragique vieilli
Noir	Infection par <i>Aspergillus niger</i>

1.6.1.2. Numération et cytologie

La valeur diagnostique des WBC pris de manière isolée reste controversée. Cependant une numération des WBC $> 1000.10^6/L$ est trois fois plus fréquente dans les infections et son association avec les paramètres de biochimie est utile pour différencier exsudat et transsudat (20)(21). Une numération des WBC $> 10\ 000.10^6/L$ oriente vers un épanchement parapneumonique ou une fistule pancréatico-pleurale (1)(18)(22).

Une numération des RBC $< 1000.10^6/L$ est en faveur d'un transsudat et $> 10\ 000.10^6/L$ en faveur d'un exsudat (23). Le seuil de $100\ 000.10^6/L$ est retenu pour orienter vers un infarctus pulmonaire (embolie pulmonaire), un épanchement parapneumonique ou un traumatisme

thoracique avec saignement intra-pleural (6). On suspecte un hémothorax lorsque l'hématocrite du liquide est supérieur à la moitié de l'hématocrite sanguin (24).

Les CM sont normalement présentes dans l'épanchement pleural et peuvent représenter jusqu'à 5% des TC. Elles se détachent de la plèvre suite à une agression et se retrouvent en suspension dans le liquide : elles sont prédominantes dans l'insuffisance cardiaque, la cirrhose, la polyarthrite rhumatoïde, le lupus et les embolies pulmonaires (18). La présence de macrophages est non spécifique et on note généralement dans les transsudats entre 60 et 80% de monocytes/macrophages, bien que 10% des transsudats présentent une majorité de PNN et 30% des transsudats une majorité de LY : ces données doivent dans tous les cas être interprétées avec le contexte clinique (25).

Une formule à prédominance de LY (> 50%) est classique dans le cancer, la TB, les épanchements rhumatoïdes et l'insuffisance cardiaque congestive, et une lymphocytose supérieure à 90% est très évocatrice de TB ou de lymphome. Il faut cependant noter que tous les épanchements chroniques tendent à devenir lymphocytaires (6).

Une prédominance de PNN évoque une inflammation aiguë ou une infection et peut se voir dans 10% des TBs pulmonaires (1)(6)(14). La numération des PNN < $250 \cdot 10^6/L$ est en faveur d'un transsudat et > $500 \cdot 10^6/L$ en faveur d'un exsudat (23). Chez le patient cirrhotique et en l'absence de pneumonie, la survenue d'un épanchement pleural avec numération des PNN > $250 \cdot 10^6/L$ et culture bactérienne positive, ou > $500 \cdot 10^6/L$ et culture bactérienne négative signe un empyème pleural bactérien spontané (26).

La présence de plus de 10% de PNE est possible dans les néoplasies, les infections et les réactions médicamenteuses, mais est idiopathique dans 25% des cas (6). Une éosinophilie

peut se développer dans les heures qui suivent un pneumothorax spontané, alors qu'en cas d'épanchement traumatique ou hémorragique elle apparaît plutôt après 10-15 jours et persiste jusqu'à la résolution de l'épanchement, en corrélation avec l'éosinophilie périphérique (25).

Dans les épanchements causés par une néoplasie, la sensibilité de la recherche de cellules malignes est de 60% à 70%, légèrement augmentée lorsqu'un deuxième prélèvement est analysé (14). Il est recommandé de ne pas réaliser cette recherche sur plus de 2 prélèvements différents car le gain de sensibilité est négligeable (13). La sensibilité est également influencée par l'expérience de l'opérateur et le type de tumeur, la sensibilité étant nettement moindre dans le cas d'un mésothéliome (la biopsie pleurale est indispensable pour poser le diagnostic) (6).

La caractérisation du type cellulaire, dans le cadre du lymphome, du myélome et d'autres hémopathies, est obtenue par l'étude de la morphologie cellulaire en microscopie optique, réalisée par un cytologiste expérimenté, et couplée à la cytométrie en flux (CMF). Cette dernière permet d'identifier les antigènes intracellulaires et à la surface des cellules. Chaque hémopathie présente un profil d'expression antigénique spécifique bien qu'il existe des formes d'expression intermédiaire pouvant poser des problèmes diagnostics (27). La CMF peut faire défaut lorsque trop peu de cellules sont présentes dans le liquide.

Tableau 3 : Orientation diagnostique selon la formule, adapté de Magro *et al.* (25)

Prédominance de PNN	Prédominance de LY	PNE > 10%
Pleurésie purulente, parapneumonique Stade précoce de tuberculose Embolie pulmonaire Pancréatite Absès sous phrénique	Tuberculose Cancer Lymphome, leucémie lymphoïde chronique Sarcoïdose Pleurésie rhumatoïde	Ponction pleurale récente, pneumothorax, hémithorax de plus d'une semaine Cancer Infections Embolie pulmonaire Asbestose Iatrogène médicamenteuse Idiopathique

1.6.2. Analyses biochimiques

Dans les épanchements cloisonnés, la composition biochimique du liquide peut être variable selon le site de la ponction et être à l'origine de résultats faussement rassurants (5).

1.6.2.1. Marqueurs de différenciation exsudat/transsudat

Les critères de Light, publiés en 1972 (20) puis modifiés en 1995 (9), permettent de distinguer les exsudats des transsudats avec une précision de 94,7%. L'exsudat se définit par un ratio protéique pleural/sérum > 0.5, un ratio des lactate déshydrogénases (LDH) pleuraux/sérum > 0.6 et des LDH pleuraux > 0.67 fois la valeur normale maximale des LDH sériques ou > 200 UI/L (5).

Tableau 4 : critères de Light modifiés, d'après Light (9)

Ratio protéines pleural/sérum	> 0.5
Ratio LDH pleuraux/sérum	> 0.6
LDH pleuraux	> norme LDH sériques x 0.67 ou > 200 UI/L

La modification des critères de Light en 1995 a été à l'origine d'une diminution de leur spécificité avec 15 à 30% de transsudats avérés classés en exsudat, mais permet ainsi de diminuer le risque de passer à côté d'un exsudat et d'un potentiel diagnostic grave (14).

Les LDH sont un marqueur de l'inflammation locale et de la lyse cellulaire. Des LDH dépassant 3 fois la norme sont retrouvés dans les infections, la pleurésie rhumatoïde, la TB et les néoplasies (5).

Dans le but d'améliorer la précision de la classification des liquides en transsudat ou exsudat, des paramètres complémentaires à ceux utilisés dans les critères de Light ont été développés. Le gradient protéique (protéines du sérum - protéines du pleural) est plus sensible que les critères de Light pour la mise en évidence d'un transsudat (91% versus 75%) et permet de corriger le diagnostic en cas de doute (en faveur d'un transsudat si > 30 g/L). Le gradient d'albumine remplit le même rôle et oriente vers un transsudat si > 12 g/L (6). Il semble cependant que l'utilisation de ces paramètres n'améliore pas la précision globale de la classification des liquides par rapport à l'utilisation seule des critères de Light (7).

Un dosage de protéines supérieur à 30 g/L ou de cholestérol supérieur à 450 mg/L est en faveur d'un exsudat avec une précision équivalente à celle des critères de Light (7).

1.6.2.2. Autres marqueurs

Le pH et le glucose sont respectivement les deux meilleurs marqueurs d'épanchement parapneumonique compliqué et l'un des deux doit obligatoirement être dosé en cas de tableau infectieux avec un liquide non purulent (il faut s'assurer de ne pas prélever d'air ou d'anesthésiant car cela a un impact sur le pH mesuré). Si le liquide est purulent, que les examens bactériologiques sont positifs ou le pH < 7.2 (ou le glucose < 3.4 mmol/L),

l'épanchement doit être drainé rapidement (13)(14). Le dosage du glucose présente également un intérêt dans la TB (< 5.6 mmol/L) et dans la polyarthrite rhumatoïde (< 1.6 mmol/L) (5)(13).

Le dosage de l'adénosine désaminase, marqueur de la prolifération lymphocytaire et monocytaire, est réalisé en cas de suspicion de pleurésie tuberculeuse. Un taux > 40 UI/L a une sensibilité de 90% et une spécificité de 85-95% pour ce diagnostic. La valeur prédictive négative (VPN) est très bonne dans les pays de faible prévalence tuberculeuse, mais la valeur prédictive positive (VPP) est mauvaise avec de nombreux faux positifs en cas d'empyème, de pleurésie rhumatoïde, de néoplasie ou d'autres maladies infectieuses (5)(6).

L'amylase est un paramètre sensible dont la valeur normale dans le liquide pleural est la même que la valeur normale plasmatique. Elle est augmentée dans la rupture œsophagienne, les pathologies pancréatiques et les néoplasies. Les fistules entre pancréas et plèvre peuvent être à l'origine de taux supérieurs à 10 000 UI/L (5).

Un dosage de triglycérides supérieures à 1.1 g/L pose le diagnostic de chylothorax (18).

Le dosage du N Terminal-pro-Brain Natriuretic Peptide (NT-proBNP) dans le liquide présente peu d'intérêt car très bien corrélé au taux plasmatique (5). Le dosage des marqueurs tumoraux n'est pas standardisé et peu sensible (6).

1.6.3. Analyses microbiologiques

L'examen direct est très peu sensible. La sensibilité de la culture en cas de suspicion d'infection est de 40%, augmentée par l'ensemencement du liquide en flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie directement après le prélèvement. La recherche d'antigène soluble ou la recherche du génome de *Streptococcus pneumoniae* par technique de Polymerase Chain

Reaction (PCR) dans le liquide est utile en cas de suspicion d'infection. En cas de suspicion de TB, la recherche de bacilles acido-alcoolorésistants (BAAR) est positive dans 56% des cas. La sensibilité de la culture en milieu solide de *Mycobacterium tuberculosis* est inférieure à 40% mais est améliorée lorsqu'elle est réalisée sur des biopsies pleurales. La recherche de son génome en PCR est positive dans 40 à 80% des cas de pleurésie tuberculeuse (spécificité 90%) (6)(13)(14).

1.6.4. Anatomo-pathologie

Une analyse histochimique du culot de l'échantillon, d'un volume minimal de 50 mL, doit être réalisée pour identifier l'origine et le type de cancer le cas échéant (5)(6).

Une biopsie des lésions pleurales est nécessaire en cas de suspicion de mésothéliome (6). Dans le cadre de la TB, la biopsie pleurale montre la présence d'un granulome (5).

1.7. Cas particulier du fœtus et du nouveau-né

Chez le fœtus, on retrouve des épanchements pleuraux, détectés lors d'une échographie, en cas de polyhydramnios. La ponction du liquide fœtal permet d'explorer la cause de l'épanchement, dont les conséquences cliniques sont différentes selon le moment d'apparition : chez le fœtus le liquide prend la place nécessaire au développement des poumons et peut être la cause d'une hypoplasie, tandis que chez le nouveau-né il va être à l'origine d'une détresse respiratoire aiguë. Chez ce dernier, l'examen clinique thoracique retrouve une matité à la percussion de la même façon que chez l'adulte.

Le chylothorax est la forme d'épanchement la plus courante chez le nouveau-né. Les formes congénitales liées à des anomalies du conduit thoracique (malformations...), causes rares d'hydrops foetalis non immunologiques, sont plus fréquentes chez le garçon (2:1) et

prédominant dans l'hémithorax droit. Les formes traumatiques sont liées à une atteinte du conduit thoracique lors de la naissance ou d'un acte invasif. Les formes secondaires non traumatiques sont rarissimes et liées à l'obstruction du conduit thoracique (tumeur, inflammation, lymphangiomatose...). Quelle que soit l'étiologie, le diagnostic est posé lorsque la numération des TC est supérieure à $1000 \cdot 10^6/L$ avec plus de 80% de LY, dans un liquide clair ou jaune (devenant laiteux après le démarrage de l'alimentation).

L'hydrothorax est un épanchement non chyleux survenant en contexte d'anémie ou insuffisance cardiaque chez le fœtus. Il peut être congénital ou acquis, parfois isolé mais plus souvent associé à un hydrops foetalis (immunologique ou non). Chez le nouveau-né les causes sont diverses : infection, malformation cardiaque, thrombose veineuse, ... En cas d'empyème le liquide est purulent avec une prédominance de PNN et parfois présence de germes à l'examen microscopique.

L'hémithorax est la conséquence d'un traumatisme ou d'une maladie hémorragique, avec passage de sang dans l'espace pleural.

Chez le nouveau-né, un liquide avec de fortes concentrations en glucose et potassium, associées à une faible cellularité et moins de 80% de LY est en faveur d'une fuite de nutrition parentérale dans l'espace pleural (28).

2. LIQUIDE D'ASCITE

2.1. Rappels

Le péritoine est une membrane séreuse qui tapisse les parois de la cavité abdomino-pelvienne (feuillet pariétal) et ses viscères (feuillet viscéral). Ces deux feuillets délimitent la cavité péritonéale qui contient physiologiquement 25 à 50 mL de liquide péritonéal (sécrété par le péritoine et dont le volume est corrélé à l'activité ovarienne chez la femme). Ce liquide est considéré comme un transsudat, contient des protéines, des électrolytes et moins de $500 \cdot 10^6$ d'éléments cellulaires par litre, dont les macrophages sont les principaux représentants (40-90%), associés à des CM et à des LY (10-40%). Jusqu'à 850 mL de ce liquide peuvent être réabsorbés chaque jour au niveau des vaisseaux lymphatiques sous-péritonéaux, ainsi que des gaz, des substances toxiques et des bactéries. On parle de liquide d'ascite lorsque le liquide péritonéal est présent en trop grand volume, avec un seuil de détection à 100 mL, en conséquence d'un déséquilibre entre production et résorption. Cela correspond toujours à une situation pathologique, aux mécanismes variables selon la cause : un excès de production s'observe en situation de rétention hydrosodée, et une diminution de la résorption en cas d'obstruction des canaux lymphatiques sous-péritonéaux (tumeur, infection) (23)(29)(30)(31).

L'ascite peut être classée selon la cause de son apparition (hypertension portale, atteinte péritonéale, ...) ou par son volume : ascite de grade 1 (uniquement décelable à l'échographie), ascite de grade 2 (ascite modérée entraînant une distension abdominale asymétrique, de volume supérieur à 1L), ascite de grade 3 (ascite importante entraînant une distension abdominale marquée, plusieurs litres de volume) (30)(32).

2.2. Epidémiologie

Dans les pays occidentaux, la cirrhose est la cause d'environ 75% des ascites. L'apparition d'une ascite est corrélée à la présence de l'hypertension portale : la vasodilatation des veines splanchniques entrainerait une baisse du volume sanguin artériel, stimulant ainsi le système nerveux sympathique et le système rénine-angiotensine-aldostérone avec pour conséquence la rétention de sodium et d'eau au niveau rénal, et la formation de l'épanchement. Il s'agit d'un facteur de mauvais pronostic qui fait discuter l'indication à la greffe (26).

Les autres causes d'ascite sont les causes malignes (10%, carcinose péritonéale et extension au péritoine d'un cancer, principalement digestif), la TB abdominale (2%), d'autres causes infectieuses, les pathologies pancréatiques (1%), l'insuffisance cardiaque (3%) et d'autres causes plus rares (Tableau 5)(26)(29)(32).

Tableau 5 : Étiologie des ascites, adapté de Buffet (29) et Oey *et al.* (32)

Hypertension portale	Causes malignes	Infections	Divers
Cirrhose Hépatite alcoolique Congestion hépatique (insuffisance cardiaque congestive, péricardite constrictive, obstruction des veines sus-hépatiques, syndrome d'obstruction sinusoidale) Thrombose portale Hypertension portale d'autres origines	Cancers intra-abdominaux, carcinose péritonéale Carcinome hépatocellulaire, métastases hépatiques Mésothéliome Lymphome	Péritonite bactérienne secondaire Tuberculose péritonéale Infection à Chlamydia Maladie de Whipple	Pancréatite Hypoalbuminémie Syndrome néphrotique Rupture ou obstruction des voies lymphatiques Hypothyroïdie, myxœdème Rupture des voies urinaires Lupus érythémateux disséminé, vascularites, syndrome POEMS Gastroentérite à éosinophiles Dialyse péritonéale Syndrome d'hyperstimulation ovarienne, syndrome de Demons-Meigs

2.3. Aspects cliniques

L'examen clinique doit avant tout éliminer une infection spontanée du liquide d'ascite (ISLA) qui engage rapidement le pronostic vital du patient, avec une mortalité hospitalière pouvant atteindre 50%. C'est une complication fréquente et de mauvais pronostic du patient cirrhotique, survenant chez 10 à 30% des patients hospitalisés, et qui impose un traitement antibiotique. La présentation clinique est variable, de non symptomatique (ce qui justifie la ponction du liquide à chaque hospitalisation ou dégradation clinique) à un tableau associant douleurs abdominales, diarrhée, défense abdominale, d'hypothermie < 36.5°C ou hyperthermie > 38°C, frissons, tachycardie, polypnée et pouvant aller jusqu'au choc. Le

mécanisme physiopathologique de cette infection spontanée est la translocation bactérienne depuis la flore digestive, dans un contexte d'augmentation de la prévalence des entérobactéries pathogènes et de baisse de la motilité intestinale, associée à une entéropathie portale favorisant la pullulation microbienne dans l'intestin grêle. Ces phénomènes sont associés à une baisse de l'immunité innée avec une baisse du chimiotactisme des PNN, baisse du pouvoir opsonisant du liquide d'ascite et baisse de la fraction C3 du complément. Les bactéries le plus souvent impliquées sont *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (33)(34)(35).

L'examen clinique recherche également des signes d'hépatopathie, d'insuffisance cardiaque ou la présence d'adénopathies. Il faut mesurer le tour de taille, vérifier la pression artérielle, et évaluer la dyspnée. L'épanchement est détectable cliniquement à partir de 500 ml et l'on observe un abdomen distendu avec une matité déclive en cas d'épanchement de volume supérieur à 1500 mL. Le caractère mobile de la matité n'est pas très sensible ni spécifique (69% dans les deux cas), et les signes du flot et du glaçon sont encore moins précis. Chez les patients cirrhotiques il est classique de retrouver des hernies ou un épanchement pleural (hydrothorax hépatique) (29)(32).

L'interrogatoire doit rechercher les antécédents et les traitements du patient, le mode de vie dont la prise de toxiques (alcool...), les facteurs de risque de pathologie hépatique ou infectieuse (virus de l'hépatite B, C, D...), l'historique du poids, du tour de taille et de l'œdème des chevilles.

2.4. Diagnostic radiologique

L'échographie abdominale est l'examen le plus sensible pour la détection de l'ascite, à partir de 100 mL. Elle permet d'estimer le volume de l'épanchement et d'explorer les causes d'épanchement (morphologie et vascularisation du foie, reins, rate) (30).

La TDM permet d'explorer les causes d'ascite. Abdominale elle permet de visualiser les organes intra-abdominaux et leur vascularisation, le péritoine, et d'éliminer une perforation digestive en contexte infectieux. Thoracique elle permet de rechercher des causes extra-abdominales d'épanchement telles que la TB ou la sarcoïdose (36).

2.5. Ponction abdominale

La ponction abdominale est réalisée dans le cadre du bilan diagnostic, ou à visée symptomatique pour soulager la dyspnée du patient. Elle doit être systématique en cas de diagnostic initial d'ascite, de dégradation de l'état général chez un patient avec une ascite connue, et à chaque présentation du patient aux urgences (34).

Le patient est positionné en décubitus dorsal et la ponction s'effectue au tiers externe de la ligne tracée entre l'épine iliaque antérosupérieure gauche et l'ombilic, si possible guidée par l'échographie pour optimiser le prélèvement. Une aseptie cutanée à la povidone iodée est réalisée avant le geste et l'on utilise une aiguille de calibre 22G (ponction exploratrice) ou 15G (ponction évacuatrice) montée d'une seringue de 50 mL. La ponction doit se faire en pleine matité en évitant de traverser les veines collatérales visibles.

Les contre-indications à la ponction sont la fibrinolyse primaire ou la coagulation intravasculaire disséminée. L'insuffisance rénale entraîne un risque hémorragique plus

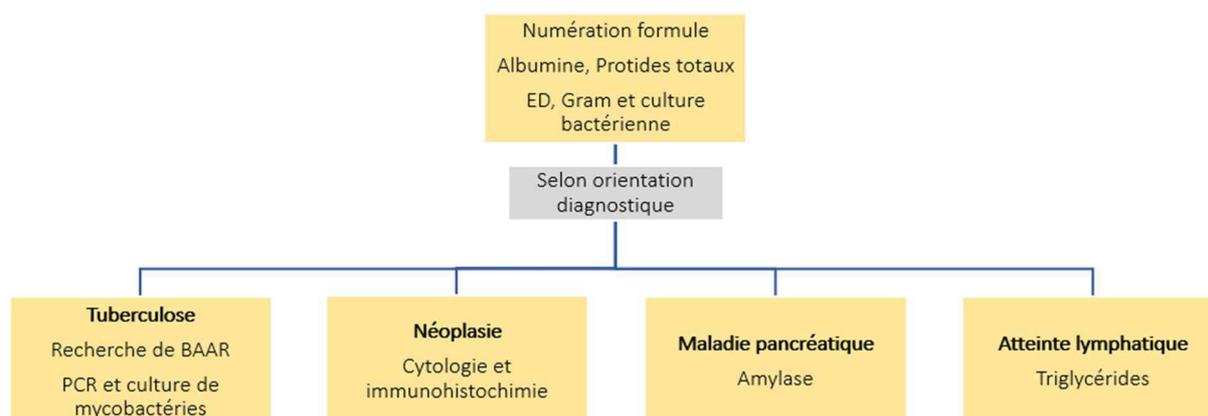
important chez le patient cirrhotique du fait de la thrombopathie qui y est associée, et n'est pas corrigé par la transfusion prophylactique de plasma frais congelé (37).

Les complications sont rares (1% hématome de la paroi, 1% hématome péritonéal, 0.1% perforation digestive, 0.1% infection). Une ponction vessie vide est recommandée car elle réduit le risque de ponctionner celle-ci. L'écoulement de liquide au point de ponction peut survenir et est prévenu par le drainage le plus complet possible de l'ascite, par la réalisation d'une suture du point de ponction, ou en demandant au patient de se coucher sur le côté opposé du site de ponction (29)(32).

2.6. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique d'un liquide d'ascite suit un cheminement différent en fonction des étiologies suspectées et toutes les analyses ne sont pas réalisées systématiquement (Figure 3). Il est nécessaire de réaliser en parallèle de la ponction d'ascite un prélèvement sanguin afin de pouvoir comparer les paramètres dosés dans les deux milieux (32).

Figure 3 : Prescription des analyses biologiques, adapté de Buffet (29) et Finci *et al.* (30)



2.6.1. Analyses hématologiques

2.6.1.1. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique du liquide doit être reporté : bien que non spécifique il permet une première orientation diagnostique (Tableau 6).

Les causes principales d'ascite chyleuse (aspect laiteux) sont la chirurgie abdominale, la pancréatite et le lymphome rétropéritonéal. 6% des patients cirrhotiques ont une ascite chyleuse et 80% des patients avec une ascite chyleuse ont un diagnostic de cancer (32).

Tableau 6 : Orientation diagnostique selon l'aspect du liquide

Apparence	Orientation diagnostique
Clair/jaune	Cirrhose
Trouble	Néoplasie, péritonite, pancréatite, perforation digestive
Chyleux	Néoplasie, traumatisme, cirrhose, infection, pancréatite, maladie congénitale

2.6.1.2. Numération et analyse cytologique

En cas d'échantillon très hémorragique avec une numération des RBC $> 10\,000 \cdot 10^6/L$, il est possible d'ajuster la numération des PNN en retirant 1 PNN pour 250 RBC, afin d'obtenir une valeur approchée en réduisant l'impact de la contamination par le sang périphérique.

Des WBC $> 500 \cdot 10^6/L$ avec PNN $> 250 \cdot 10^6/L$ en l'absence de foyer infectieux intra-abdominal ou de perforation digestive posent le diagnostic d'ISLA avec une bonne sensibilité (90-100%) et spécificité (86-100%). Il faut cependant interpréter les résultats au regard du contexte clinique car les ISLA à cocci gram positif peuvent avoir une numération des PNN $< 250 \cdot 10^6/L$. La numération doit être répétée à 48h de l'instauration de l'antibiothérapie pour évaluer

l'efficacité de cette dernière (diminution de la valeur absolue des PNN en faveur d'une ISLA, persistance en faveur d'une péritonite bactérienne secondaire (PBS)) (21)(32)(38).

Une numération des PNN $< 250.10^6/L$ associée à une culture bactérienne positive signe la bactérascitie et peut correspondre à une colonisation transitoire de l'ascite ou à un début d'ISLA (et doit être considérée comme telle en cas de signes cliniques d'infection). Son incidence varie de 2-3% en ambulatoire à 11% chez les patients hospitalisés et est associée à une mortalité importante (jusqu'à 21%) (33).

Une numération des WBC $> 300.10^6/L$ avec LY $> 70\%$ est en faveur d'une ascite chyleuse. Des WBC $> 500.10^6/L$ avec LY $> 70\%$ sont en faveur d'une TB péritonéale ou d'une ascite pancréatique. Une formule à majorité de LY peut également orienter vers une hémopathie lymphoïde, le diagnostic est alors posé par l'étude morphologique des cellules en microscopie optique, éventuellement associée à la cytométrie en flux.

Les ascites d'insuffisance cardiaque ont une numération des WBC qui tend à être inférieure à $300.10^6/L$.

Une éosinophilie $> 10\%$ peut être observée en cas de dialyse péritonéale chronique, d'insuffisance cardiaque congestive, de vascularite, de lymphome...

L'étude cytologique du liquide en microscopie optique est indispensable en cas de suspicion de néoplasie : sa sensibilité est de 40 à 60% mais peut monter jusqu'à 97% si 3 prélèvements différents sont analysés. La sensibilité est également améliorée si le délai entre prélèvement et analyse cytologique est très court. En cas de carcinome hépatocellulaire (CHC) la sensibilité de détection de cellules néoplasiques est réduite à 27%. Au contraire, 97% des patients avec

carcinose péritonéale ont des cellules néoplasiques détectables dans le liquide d'ascite (30) (32).

2.6.2. Analyses biochimiques

Le gradient d'albumine (albumine du sérum moins albumine de l'ascite) est à l'heure actuelle le marqueur le plus sensible pour faire la différence entre une ascite causée par une hypertension portale (gradient > 11 g/L) et les autres causes d'ascite, avec une précision de 97% (Tableau 7). Ce gradient nécessite de doser l'albumine dans des prélèvements sanguin et d'ascite réalisés en parallèle ou de manière rapprochée.

Le dosage du glucose et des LDH dans le liquide d'ascite ne sont plus recommandés, car non spécifiques et dépendants du gradient d'albumine (32).

Tableau 7 : Orientation diagnostique selon le gradient d'albumine, adapté de Moore et Aithal (39)

Gradient d'albumine \geq 11 g/L	Gradient d'albumine < 11 g/L
Cirrhose	Néoplasies
Insuffisance cardiaque	Pancréatite
Syndrome néphrotique	Tuberculose

Le dosage des protéines totales est toujours recommandé à l'heure actuelle car il constitue un facteur pronostic, lorsque la concentration protéique est inférieure à 15 g/L, d'ISLA chez le patient cirrhotique (reflet de la baisse du pouvoir d'opsonisation du liquide). Il s'agissait à l'origine de classer le liquide en transsudat (< 25 g/L : cirrhose) ou exsudat (> 25 g/L : carcinose péritonéale, TB) comme élément d'orientation diagnostique, mais cette stratégie est aujourd'hui moins performante que le calcul du gradient d'albumine (29)(32).

L'amylase est un marqueur non spécifique pouvant être utilisé dans un contexte de cirrhose alcoolique ou de pancréatique. On calcule le ratio amylase de l'ascite sur amylase sérique :

une valeur inférieure à 0.4 exclut une origine pancréatique alors qu'un ratio supérieur à 6 (ou une valeur absolue supérieure à 100 UI/L) est en faveur d'une origine pancréatique (32).

Un taux de triglycérides dans l'ascite supérieur à celui du sérum (2.2 mmol/L) définit l'ascite chyleuse (32).

Un taux de cholestérol supérieur à 1.8 mmol/L ou de LDH supérieur à la concentration plasmatique sont des marqueurs sensibles (90%) mais peu spécifiques d'ascite néoplasique (36).

L'adénosine désaminase est une enzyme du métabolisme des purines dont l'activité élevée est très spécifique de l'ascite tuberculeuse. Une ADA située entre 36 et 40 UI/L a une sensibilité de 100% et une spécificité de 97% pour le diagnostic de TB abdominale. (32).

La créatinine permet de mettre en évidence l'origine urinaire d'une ascite. Le ratio de créatinine de l'ascite sur la créatinine du plasma est normalement égal à 1 et peut monter jusqu'à 5 en cas d'ascite d'origine urinaire (32).

2.6.3. Analyses bactériologiques

Avant tout traitement antibiotique, 10 mL de liquide d'ascite doivent être ensemencés directement au lit du patient dans des flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie (asciculture). Cette technique permet d'identifier l'agent bactérien dans environ 80% des ISLA. La recherche du génome bactérien par PCR est positive dans 40% des cas chez les patients cirrhotiques mais n'est pas prédictive d'une infection du liquide d'ascite (32)(33).

L'ADN bactérien de *Mycobacterium tuberculosis* peut être détecté par PCR avec une très bonne sensibilité (94%). La culture bactérienne reste néanmoins le Gold standard et permet une étude de l'antibiogramme (32).

2.6.4. Anatomo-pathologie

Un volume minimal de 50 mL de liquide doit être prélevé pour l'étude immunohistochimique afin d'atteindre une sensibilité satisfaisante dans la recherche de cellules pathologiques (32).

3. ANALYSE AU LABORATOIRE D'HÉMATOLOGIE

3.1. Présentation du laboratoire

Le laboratoire d'hématologie des HUS possède deux sites aux activités distinctes, en termes de nombre et de types de liquides analysés : le site de l'hôpital de Hautepierre et le site du Nouvel Hôpital Civil (NHC). Le site de Hautepierre reçoit les prélèvements des services d'hépatogastro-entérologie et analyse ainsi la majorité des liquides d'ascites des HUS, tandis que le site du NHC reçoit les prélèvements des services de pneumologie (dont un service d'onco-pneumologie) et analyse la majorité des liquides pleuraux des HUS. Depuis le déménagement des services d'oncologie et oncohématologie dans le nouveau bâtiment de l'ICANS (Institut de Cancérologie Strasbourg Europe) en fin d'année 2019, le site de Hautepierre analyse également tous les liquides en provenance de ces services.

Sur la période de 2019 à 2020 incluse, soit un peu moins de 2 ans, le laboratoire a analysé près de 7000 liquides dont environ 3000 LCR.

3.2. Étape pré-analytique

Cette étape est primordiale pour l'obtention de résultats fiables.

Un volume minimal de 1 mL de liquide doit être prélevé sur tube sec ou EDTA et acheminé le plus rapidement possible au laboratoire. Il est recommandé d'analyser les liquides biologiques dans les 2h suivant le prélèvement, mais compte-tenu des contraintes d'acheminement nous acceptons les liquides dans un délai maximal de 6h (1). En effet les cellules présentes dans le liquide se dégradent au fil du temps et un délai trop long avant analyse peut entraîner une perte d'information par altération voire destruction pré-analytique des cellules. Les échantillons des services de Hautepierre sont acheminés au laboratoire par coursier, et par

pneumatique pour les sites de HautePierre 2 et de l'ICANS. La réception commune des laboratoires du site réceptionne ces échantillons, gère l'enregistrement des bilans de biochimie et d'hématologie, et fait parvenir les différents échantillons aux laboratoires concernés. Les services du NHC envoient leurs échantillons au laboratoire par un système de valisettes sur rails, et par coursier pour les autres services présents dans le quartier de l'Hôpital Civil. Les échantillons sont réceptionnés à l'admission commune des laboratoires du NHC qui fonctionne sur le même principe que celle de HautePierre.

Chaque échantillon doit être identifié à l'aide de l'étiquette patient de l'hôpital, collée sur le tube et qui comporte entre autres le nom de naissance (et d'usage le cas échéant), le prénom et la date de naissance. Il doit être accompagné de la feuille de demande d'examen comportant les mêmes informations que le tube, et sur laquelle sont notés les examens souhaités et les renseignements cliniques pertinents ainsi que les noms du prescripteur et du préleveur.

3.3. Analyses en technique manuelle

3.3.1. Généralités

Une fois arrivés au laboratoire d'hématologie, tous les échantillons sont traités avec les précautions d'hygiène standard : port de gants à usage unique, manipulation et ouverture du tube sous hotte (poste de sécurité microbiologique ou PSM), traitement de l'échantillon à l'aide de pipettes pourvues de cônes à usage unique et de pipettes molles à usage unique. La gestion des déchets entrés en contact avec l'échantillon se fait selon la procédure du laboratoire (poubelle pour déchets d'activités de soins à risques infectieux ou DASRI).

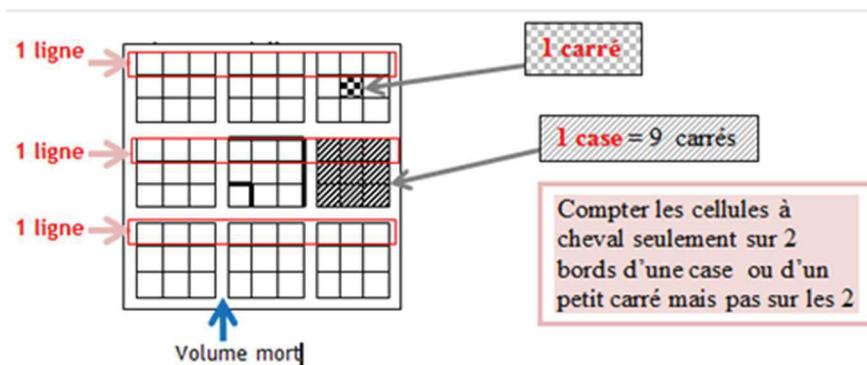
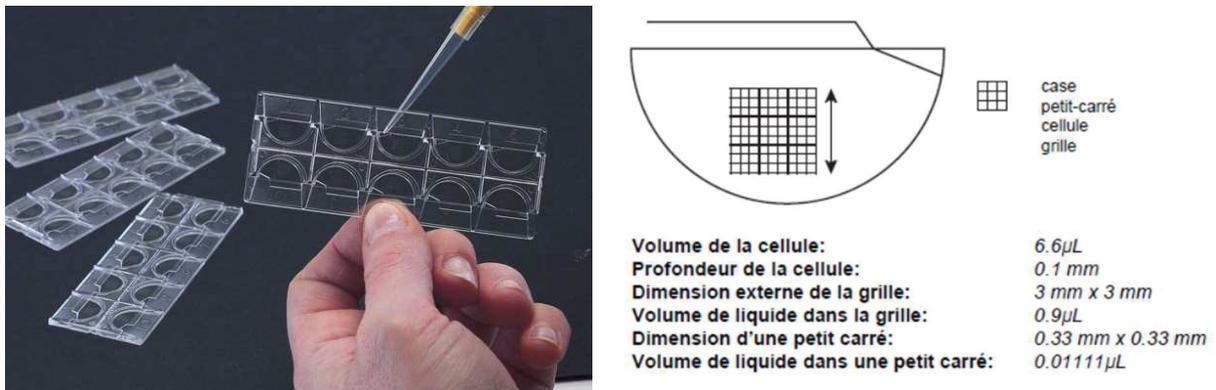
3.3.2. Numération cellulaire

La numération cellulaire par technique manuelle reste à ce jour le Gold standard (21). Au laboratoire d'hématologie des HUS, la numération manuelle des RBC et des TC (WBC + cellules de revêtement, cellules pathologiques éventuelles) est réalisée par décompte des cellules en microscopie optique à l'aide d'une cellule de comptage de type Kova® Glasstic® Slide 10 (Figure 4). Le résultat est rendu en millions de cellules par litre ($10^6/L$).

Après homogénéisation de l'échantillon par 10 retournements lents, le liquide est introduit à l'aide d'une pipette molle dans la cellule de comptage d'un volume de 6,6 μL dans laquelle se trouve un quadrillage délimitant un volume de 0.9 μL . Ce quadrillage est composé de 9 grands carrés, et chaque grand carré est composé de 9 petits carrés (Figure 4).

Après remplissage, on laisse reposer la cellule de comptage de 3 à 5 minutes pour permettre aux cellules du liquide de sédimenter. On observe ensuite le dispositif au microscope optique, d'abord au faible grossissement (x100 ou x200) pour apprécier l'homogénéité de répartition des cellules puis au fort grossissement (x400) pour réaliser leur décompte, sans coloration additionnelle. S'il y a 10 à 100 cellules en moyenne par grand carré, on ne compte les cellules que dans 3 grands carrés en diagonale ou dans les lignes 1, 4 et 7, et on multiplie la valeur moyenne des 3 carrés ou lignes par 10. Lorsqu'il y a de 10 à 100 cellules en moyenne par petit carré, on ne compte les cellules que dans 4 à 10 petits carrés répartis sur l'ensemble de la cellule de comptage et l'on multiplie la valeur moyenne des petits carrés par 90 (Figure 4). Au-delà de 100 cellules par petit carré, on réalise une dilution adaptée à la cellularité avant de réaliser un nouveau décompte. Il est important de compter dans des carrés représentatifs de la cellularité globale du quadrillage.

Figure 4 : Cellule de comptage Kova® Glasstic® Slide 10 (notice fabricant, procédure du laboratoire)



La précision de cette méthode d'analyse est variable et dépend de nombreux facteurs :

- Le nombre de cases comptées par l'opérateur, la dilution éventuelle et la justesse des calculs menant au résultat final ;
- La bonne reconnaissance des cellules (RBC versus TC), qui dépend de l'expérience de l'opérateur et qui peut être complexe si les cellules sont altérées ;
- Le remplissage adéquat de la cellule de comptage avec absence de bulle visible à l'œil nu (il est fréquent d'avoir des bulles d'air dans la cellule, ce qui augmente artificiellement la concentration cellulaire) ;
- L'homogénéité de la répartition des cellules qui peut être variable.

Il s'agit donc d'une technique d'analyse nécessitant un personnel expérimenté, longue à réaliser, et présentant une forte variabilité inter-opérateur (avec des variations de numération pouvant atteindre 116% soit $> 300.10^6$ WBC/L et 141% soit $> 300.10^6$ RBC/L) (21).

Dans notre laboratoire, nous avons étudié la variabilité inter-opérateur de 10 opérateurs dans le cadre du dossier de validation de méthode de la cytologie des liquides de ponction. Tous ont réalisé un décompte des TC et des RBC d'un même LCR et d'un même liquide d'ascite. Le coefficient de variation (CV) était compris entre 5.9% et 31.4% selon le liquide et les cellules décomptées, ce qui était conforme avec le CV limite du laboratoire fixé à 45% (Tableau 8).

Tableau 8 : Variabilité inter-opérateur de la numération en technique manuelle

VARIABILITE INTER-OPERATEURS Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>								
Echantillons		Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	Ratio CV global/CV référent	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source ⁴)	Conclusion
ETAT FRAIS								
LCR	RBC	10	72.18	4.25	5.9	1.01	45	Conforme
	TC		21.82	4.5	20.6	2.64	45	Conforme
ASCITE	RBC	10	274.7	86.14	31.4	2.99	45	Conforme
	TC		395	37.19	9.4	0.96	45	Conforme

⁴Clinical relevance and contemporary methods for counting blood cells in body fluids suspected of inflammatory disease. De Jonge et al. 2014.

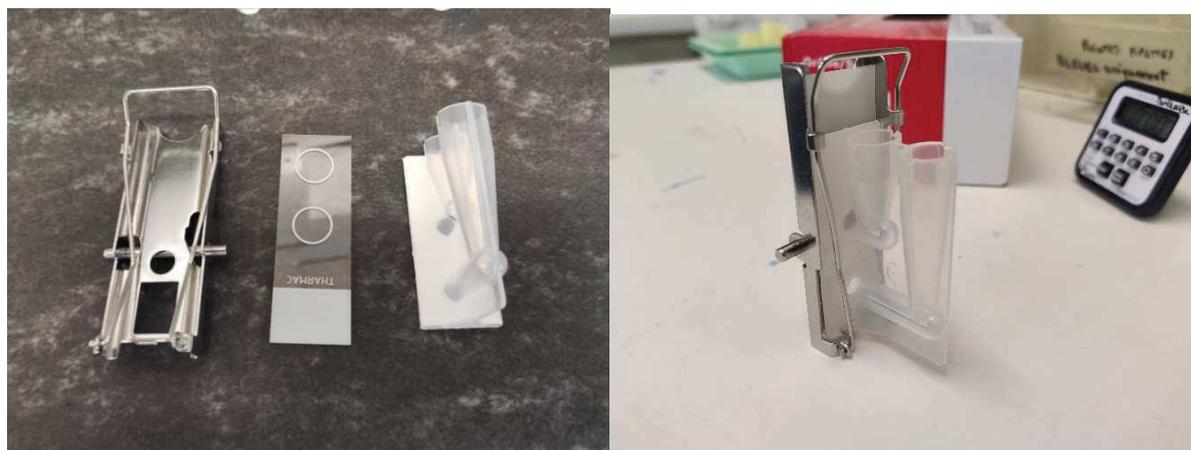
3.3.3. Formule leucocytaire et morphologie cellulaire

La technique de cytocentrifugation et coloration au MGG est actuellement considérée comme la meilleure méthode de différenciation des cellules dans les liquides biologiques (21).

Dans notre laboratoire, l'échantillon est déposé par centrifugation sur une lame rodée Super Frost® possédant deux cercles qui délimitent des zones de lecture. Le liquide biologique est introduit dans les puits d'une cytocuvette jetable double-puit (BI CYTO CELL) apposée sur la lame de verre et maintenue par un Cytoclip en métal (Figure 5). Un volume adapté à la nature,

à l'aspect macroscopique et à la cellularité du liquide est déposé dans chaque puit de la cytocuvette (200 μL pour un LCR, 100 μL pour un liquide d'épanchement voire 50 μL si le liquide est très cellulaire) puis le dispositif est centrifugé à 500 tours par minute pendant 5 minutes (centrifugeuse ThermoScientific® Cytospin 4). Le liquide est ainsi projeté au niveau des zones de lectures de la lame de verre.

Figure 5 : Éléments séparés et montage de la lame de verre entre cytocuvette et Cytoclip.



Après centrifugation, la cytocuvette est séparée de la lame et jetée en poubelle DASRI. La lame est séchée et colorée au MGG selon la technique du laboratoire, élaborée en suivant les recommandations de Piaton *et al.* (40). La lame est immergée pendant 3 minutes dans un bain de May-Grünwald pur afin de fixer les cellules par l'action du méthanol, puis 3 minutes dans un bain de May-Grünwald dilué au demi dans de l'eau tamponnée de pH compris entre 6.5 et 7 (ionisation des colorants démasquant leur affinité pour certaines structures cellulaires), afin de colorer les éléments acidophiles des cellules. On immerge ensuite la lame pendant 25 minutes dans un bain de Giemsa dilué au dixième dans de l'eau tamponné (même principe que précédemment) afin de colorer les noyaux et certains éléments cytoplasmiques. La lame est rincée en eau tamponnée puis à l'eau du robinet avant d'être séchée.

Les zones de lecture (ou spots) de la lame sont ensuite parcourues au microscope optique au faible grossissement (x 100), en parcourant l'intégralité de chaque spot selon un trajet de créneaux, pour vérifier la répartition des éléments, apprécier la présence éventuelle de cellules non hématopoïétiques d'accompagnement (cellules de revêtement) et rechercher des cellules anormales de grande taille (en fonction du contexte : cellules lymphomateuses, métastatiques...). Cette étape permet de choisir la zone du spot où les cellules sont réparties de façon homogène et bien étalées. La zone choisie est alors observée à plus fort grossissement (x500 ou 630 selon les microscopes) à l'aide d'un objectif à immersion à huile, afin d'effectuer la formule leucocytaire, de rechercher d'éventuelles cellules anormales (blastés, cellules lymphomateuses, cellules métastatiques) et d'évaluer la morphologie des cellules.

La formule leucocytaire est réalisée sur 100 cellules si la cellularité le permet. Lorsque moins de 100 cellules sont présentes sur la lame, cas le plus fréquent des LCR, la formule est réalisée sur la totalité des WBC observées. En cas de cellularité élevée, plus de 100 cellules sont comptées (multiple de 100 à partir de 200).

La formule leucocytaire est rendue en pourcentage. La présence de cellules de revêtement est rapportée de façon semi-quantitative (rares, quelques, nombreuses). Un commentaire morphologique est rendu lorsque c'est pertinent et l'on signale également la présence de cellules anormales (cellules d'allure extra-hématopoïétique, plasmocytes dystrophiques, blastés, bactéries...).

Cette technique a pour désavantage de détruire une partie plus ou moins importante des cellules du liquide et de faire apparaître des morphologies cellulaires aberrantes par l'action des forces de centrifugation, ce qui peut compliquer la reconnaissance cellulaire et être à

l'origine d'une formule leucocytaire erronée. L'analyse d'un échantillon fraîchement prélevé permet de limiter ces effets (21).

3.4. Analyses en technique automatisée

3.4.1. Présentation de l'automate

Le laboratoire d'hématologie des HUS dispose d'une chaîne d'hématimètres XN-9000 (SYSMEX® Corporation, Kobe, Japon).

Cette chaîne est composée de 3 hématimètres XN tous équipés des canaux de base pour la réalisation des numérations-formules sanguines (NFS) de routine : canal RBC/PLT pour la numération par impédance avec focalisation hydrodynamique des RBC et plaquettes, canal WNR (White cell Nucleated channel) pour la numération par fluoro-cytométrie en flux des WBC et polynucléaires basophiles (PNB), canal WDF (WBC Differential channel) pour la numération par fluoro-cytométrie en flux des WBC non PNB.

Deux des hématimètres XN sont équipés des canaux optionnels RET (numération des réticulocytes) et PLT-F (numération des plaquettes par fluorescence). Le troisième hématimètre XN est équipé du module optionnel XN-BF (XN-Body Fluid) dédié à l'analyse des liquides biologiques à l'aide des canaux RBC/PLT et WDF. Ce module doit être démarré manuellement avant toute analyse de liquide biologique, ce qui enclenche automatiquement un rinçage de l'automate et le test d'un blanc afin d'éliminer le risque de contamination par les échantillons sanguins analysés précédemment sur l'automate. En effet le module BF est installé sur un automate réalisant les NFS en routine, et les échantillons sanguins sont bien plus riches en cellules que les liquides biologiques (RBC : $5 \cdot 10^{12}/L$ dans le sang contre aucun dans un liquide biologique ; WBC : 4 à $10 \cdot 10^9/L$ dans le sang contre 0 à quelques $10^6/L$ dans un liquide biologique). Une contamination pourrait avoir un impact significatif sur le résultat, et

donc le diagnostic et le traitement du patient. Ce rinçage et test d'un blanc est également réalisé automatiquement entre chaque analyse de liquide biologique car les concentrations cellulaires sont très variables et peuvent être élevées.

3.4.2. Cellules nucléées

Le canal WDF de l'hématimètre XN réalise la numération et la différenciation des TC par fluoro-cytométrie en flux.

L'échantillon est mis en contact avec un réactif de lyse « douce » qui détruit les RBC et perméabilise les WBC. Cette perméabilisation permet l'entrée dans les cellules d'un fluorochrome qui marque les acides nucléiques (acide ribonucléique ou ARN, acide désoxyribonucléique ou ADN). L'échantillon est ensuite acheminé dans une chambre de mesure (Figure 6). Les cellules passent les unes après les autres par un orifice de comptage étroit où elles sont illuminées par un laser semi-conducteur puis émettent des signaux, récoltés par 3 capteurs différents (Figure 7). L'intensité de la diffusion frontale de la lumière (FSC : « forward scatter ») indique le volume cellulaire, l'intensité de la diffusion latérale de la lumière (SSC : « side scatter ») est fonction du contenu de la cellule (taille du noyau, granulations) et la fluorescence latérale de la lumière (SFL : « side fluorescence light ») indique le contenu en acides nucléiques de la cellule.

Les cellules sont séparées en types cellulaires grâce à ces informations, et représentées sur un graphique de dispersion (scattergram) de la fluorescence en fonction de la complexité interne des cellules. Les cellules mononucléées (MN), les cellules polynucléées (PMN) et les cellules de haute fluorescence (High Fluorescence cells, HF-BF) sont ainsi représentées (Figure 8). La somme des MN et PMN compose les WBC (White Blood Cells, WBC-BF). La somme des WBC-BF et HF-BF compose les TC (Total nucleated Cells, TC-BF).

Figure 6 : Représentation physique du canal WDF, d'après Sysmex® (41)

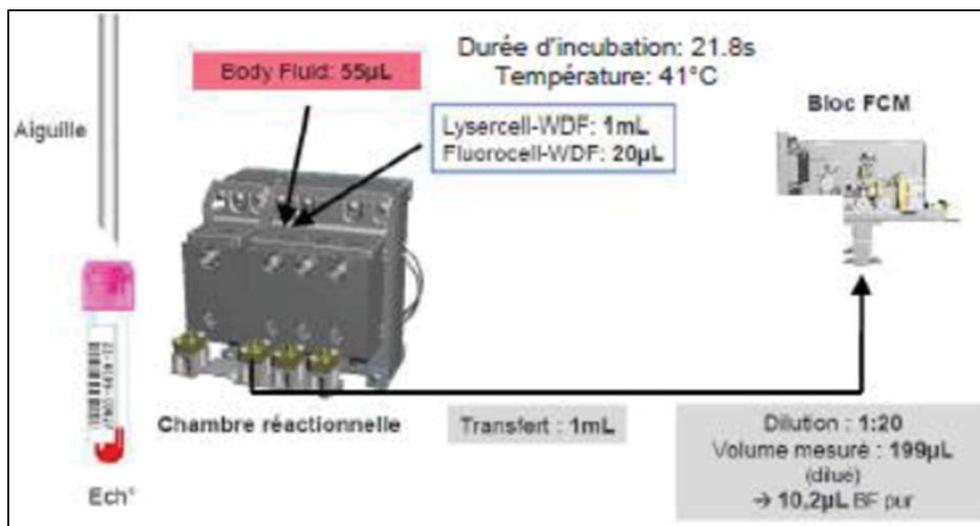
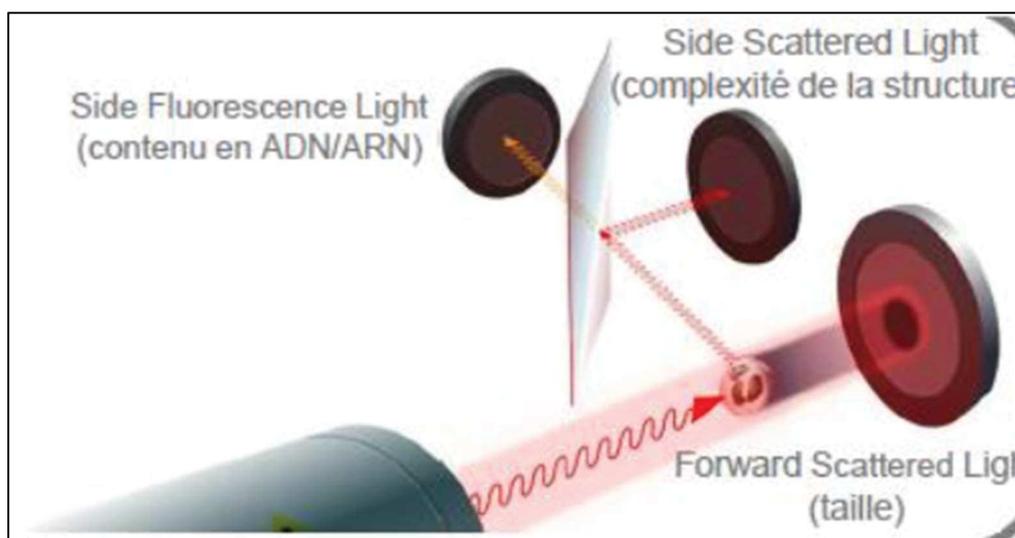


Figure 7 : Caméras du canal WDF, d'après Bupha (42)



L'automate rend la valeur absolue des TC-BF et des WBC-BF en $10^6/L$. Les HF-BF ne sont pas rendues en routine car leur mesure n'est pas validée par le constructeur : il s'agit d'un paramètre de recherche. Une formule leucocytaire approchée, sous forme de pourcentage de cellules mononucléées (MN) et de cellules polynucléées (PMN), est rendue par l'automate en routine. En ce qui concerne la formule leucocytaire « précise », c'est-à-dire la séparation des WBC en PNN, PNE, PNB, LY et MON, elle n'a pas été validée par le constructeur.

Le logiciel de validation E-IPU fournit par le constructeur permet de visualiser le scattergram de chaque échantillon, ce qui permet de s'assurer de la bonne séparation des différentes populations et de détecter une interférence éventuelle (Figure 9).

Figure 8 : Représentation graphique de la numération-formule des TC par diffraction optique en fluorescence et cytométrie en flux

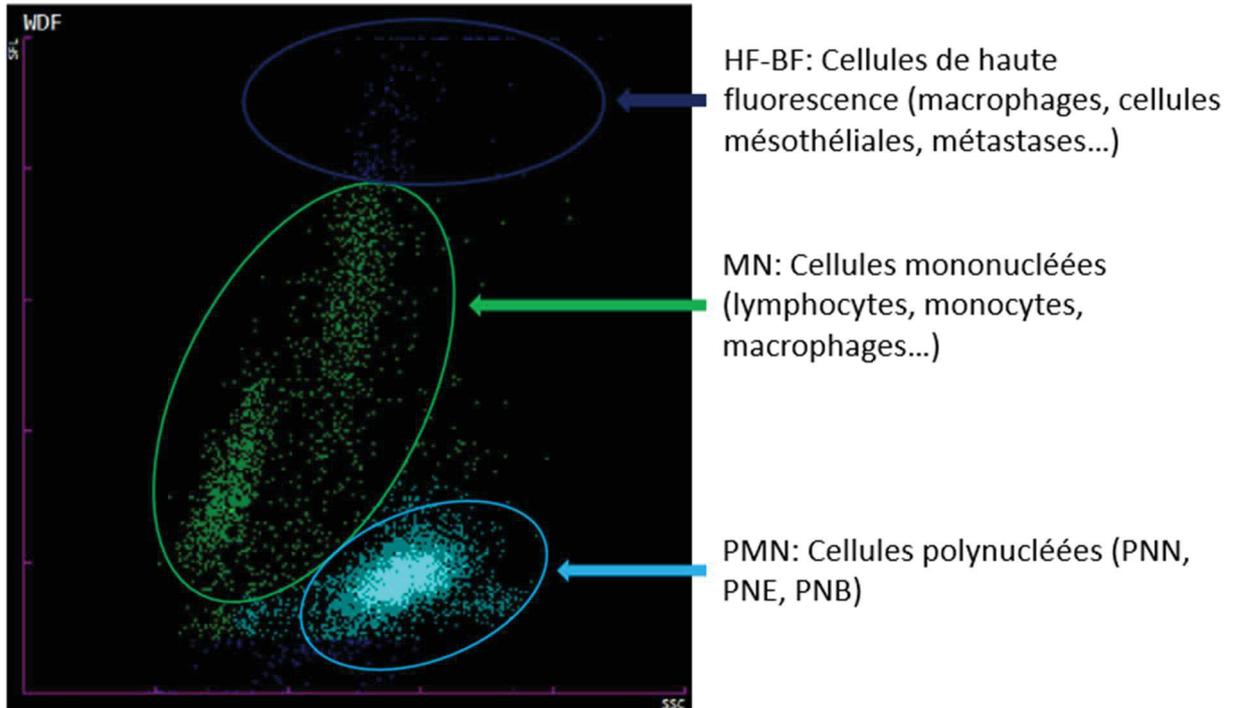
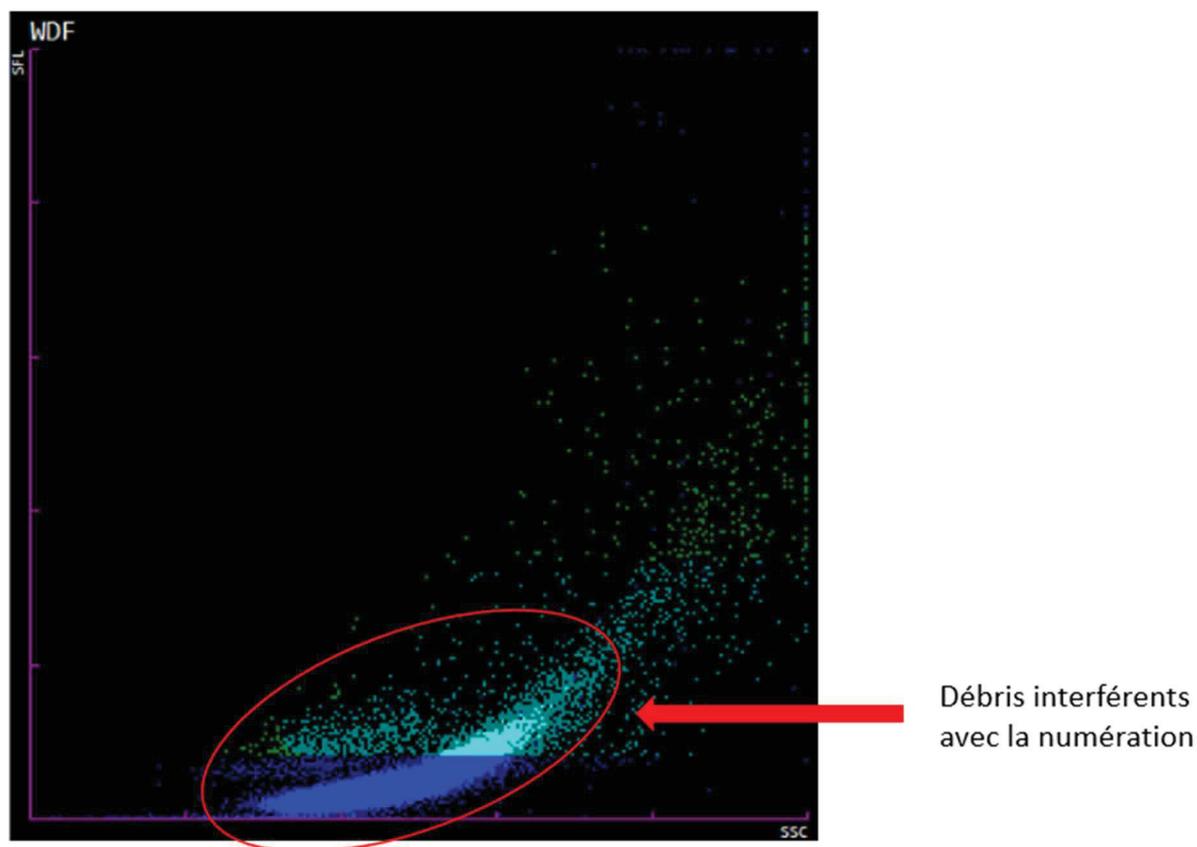


Figure 9 : Interférence automate de la numération des TC par des débris cellulaires



3.4.3. Hématies

Le canal RBC/PLT permet la numération des RBC après focalisation hydrodynamique d'un liquide de gainage qui assure le maintien de la forme physiologique, le centrage et le passage une à une des RBC au travers du micro-orifice de comptage (Figure 10,11). Ce micro-orifice est composé de deux électrodes traversées par un courant continu, et chaque passage d'un RBC dans le courant crée une impulsion électrique proportionnelle à la taille de la cellule.

Figure 10 : Focalisation hydrodynamique, d'après Sysmex® (43)

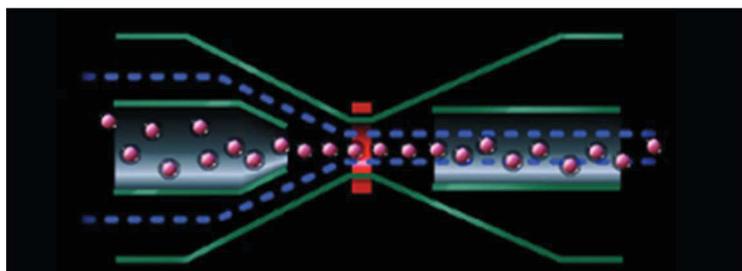
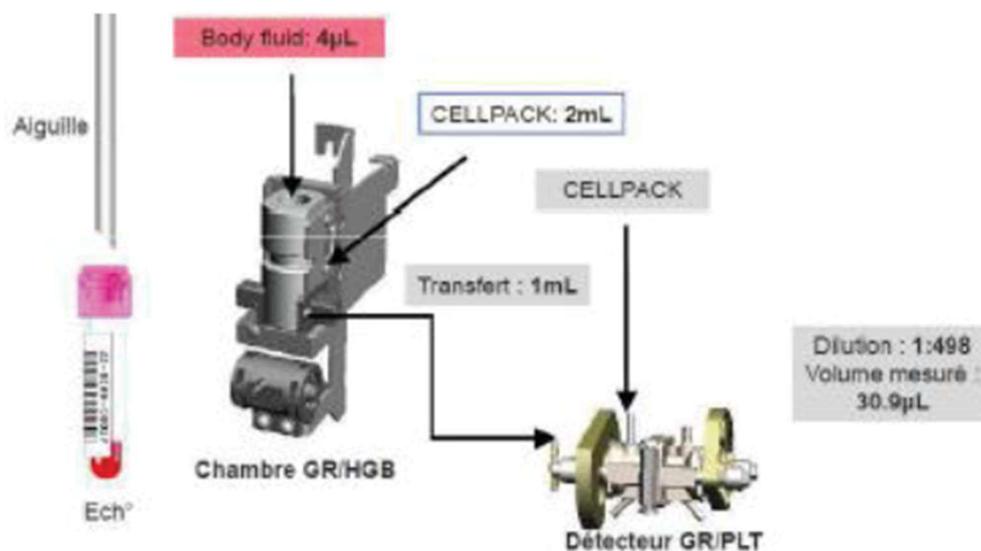


Figure 11 : Représentation physique du canal RBC/PLT, d'après Sysmex® (41)



L'automate rend la valeur des RBC en $10^6/L$ et convertit les données en histogramme représentant la distribution des cellules en fonction de leur volume. Il est visible dans le logiciel E-IPU et permet de contrôler la répartition cohérente des volumes et l'absence d'interférences (Figure 12,13).

Figure 12 : Histogramme de volume des RBC

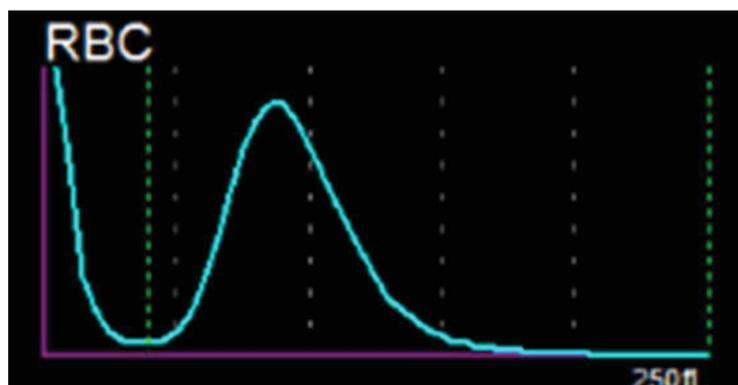
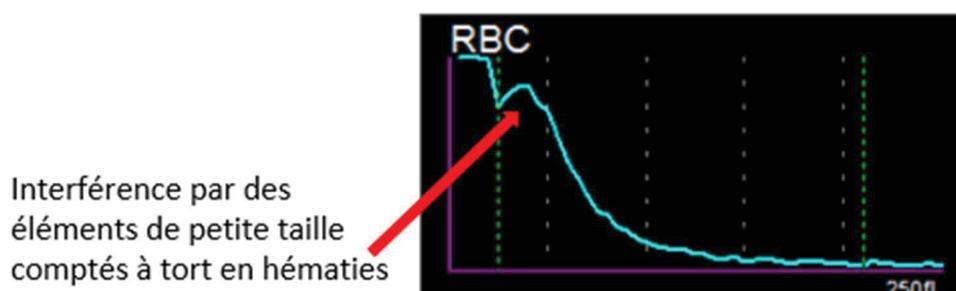


Figure 13 : Histogramme de volume des RBC présentant une interférence



3.4.4. Paramètres de recherche

Il s'agit de paramètres qui n'ont pas encore été validés par le constructeur et ne peuvent pas être utilisés en routine. Les résultats sont donc indicatifs et ne sont jamais transmis au prescripteur.

3.4.4.1. Numération des cellules de haute fluorescence

Au-delà d'un certain seuil de fluorescence les cellules sont arbitrairement classées en cellules de haute fluorescence ou HF-BF (Figures 14, 15). Ces cellules peuvent être des macrophages, des CM, des blastes, des cellules lymphomateuses, des cellules métastatiques... L'automate rend la valeur absolue de ces cellules en tant que paramètre de recherche, en 10^6 cellules/L.

Figure 14 : Zone HF-BF sur l'écran de recherche de l'E-IPU

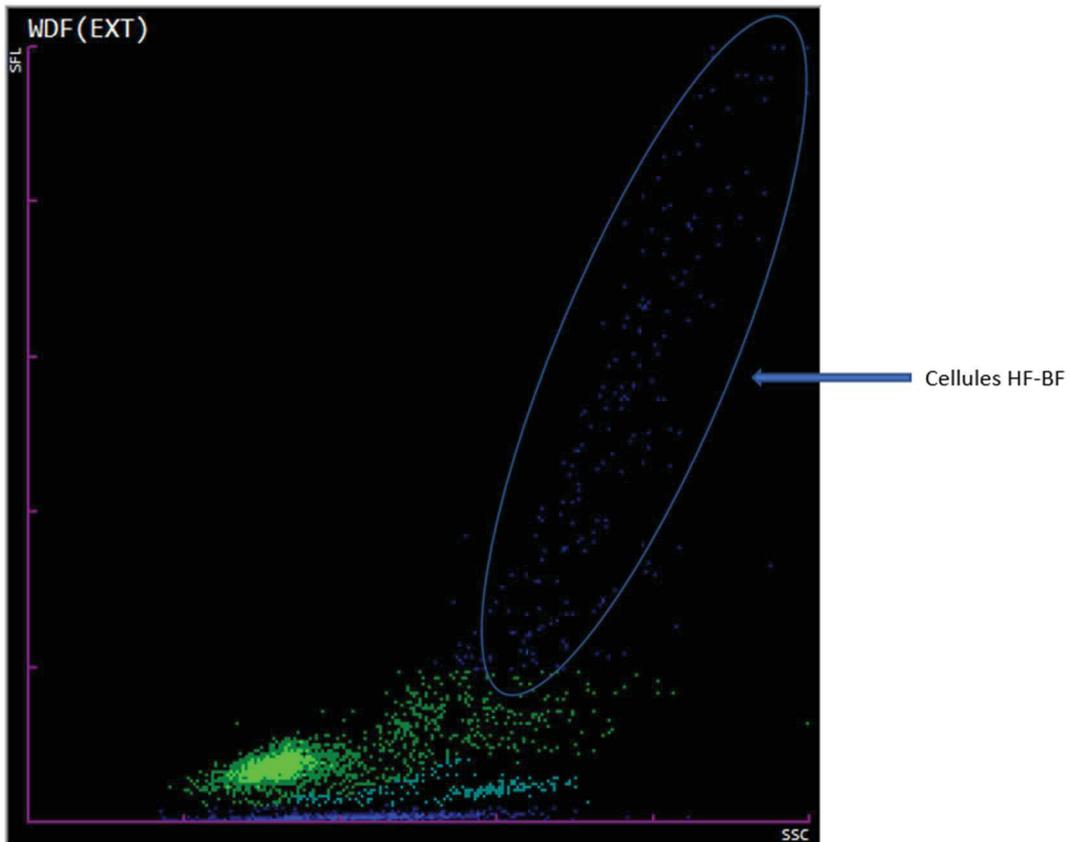
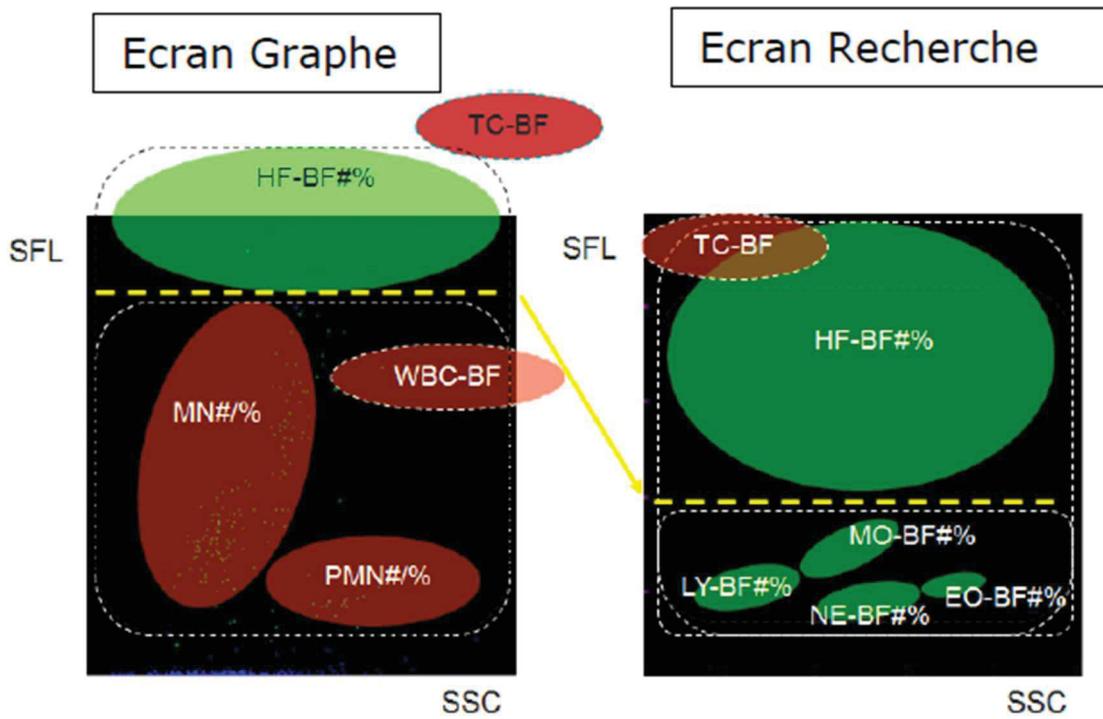


Figure 15 : Scattergram des TC (routine et recherche), d'après Sysmex® (41)



3.4.4.2. Formule leucocytaire

Une formule classique est proposée avec séparation des WBC en PNN (NE-BF), PNE (EO-BF), LY (LY-BF), MON (MO-BF), à l'image de la formule leucocytaire rendue en routine par l'automate pour les échantillons de sang. L'automate rend le pourcentage de chaque population leucocytaire en tant que paramètre de recherche.

4. VALIDATION DE MÉTHODE

4.1. Rationnel de l'étude

Les hématimètres automatisés, tels que le modèle XN de Sysmex® (analyses par impédance et cytométrie en flux), sont aujourd'hui communs dans les laboratoires d'analyses biologiques. L'utilisation sur ces automates de modules dédiés à l'analyse des liquides biologiques tend à se développer. Les laboratoires disposant de ce type de module doivent rigoureusement évaluer performances, avantages et inconvénients des techniques d'analyse manuelle et automatisée (Tableau 9), afin d'établir leur propre stratégie de prise en charge et d'analyse des liquides biologiques. De nombreux facteurs doivent être pris en compte, tels que les capacités techniques du laboratoire, le volume habituel des échantillons, les types et la cellularité des liquides biologiques, ainsi que les catégories de patients pour lesquels les analyses sont prescrites. Cela nécessite une connaissance approfondie des techniques étudiées.

Tableau 9 : Avantages et inconvénients des types de techniques, adapté de Fleming *et al.* (44)

Avantages	Inconvénients
Technique manuelle	
Formule leucocytaire détaillée Faible volume d'échantillon nécessaire Permet l'étude des échantillons à problèmes (interférences...)	Grande imprécision de mesure Grande variabilité inter-opérateur Chronophage
Technique automatisée	
Rapide Facile d'utilisation Bonne précision Bonne reproductibilité	Limite de détection élevée (RBC : $2000 \cdot 10^6/L$) Limite supérieure de linéarité pour les WBC : $10000 \cdot 10^6/L$ Pas de formule leucocytaire détaillée Détection des cellules pathologiques peu précise

L'analyse automatisée des liquides biologiques présente plusieurs difficultés, en comparaison avec l'analyse du sang pour laquelle les hématimètres automatisés ont été développés : les liquides biologiques ont une faible cellularité, une matrice différente du sang et des éléments cellulaires particuliers comme les macrophages, les cellules de revêtement et d'éventuelles cellules métastatiques. La taille des CM et des métastases est en moyenne plus importante que celle des WBC, ce qui permet de les séparer en populations distinctes. Un chevauchement des tailles de ces populations cellulaires peut exister au sein d'un même liquide et être à l'origine d'une classification cellulaire erronée.

D'après Desquilbet (45), « Une méthode de mesure est valide si elle est répétable, reproductible, et si elle fournit des valeurs correctes. Pour cela, il faudra confronter les valeurs fournies par la méthode de mesure testée à celles fournies par une méthode dite de référence. » Ainsi, nous avons étudié les performances de l'analyse automatisée des liquides biologiques par le module XN-BF de l'hématimètre XN (Sysmex®, Kobe, Japon) en comparant les résultats obtenus par cette technique avec les résultats obtenus par la technique manuelle, utilisée en routine au laboratoire. Nous avons réalisé un dossier de validation de méthode en portée A (vérification de méthode), portant sur l'analyse cytologique des liquides biologiques (numération, formule leucocytaire, recherche de cellules anormales). Nous nous sommes limités à l'analyse des liquides pleuraux et d'ascite, qui constituent la majorité de la routine, hors LCR.

4.2. Dossier de validation de méthode (hors comparaison des méthodes)

Nous avons étudié la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la justesse et l'exactitude de la technique automatisée. Ces concepts sont définis par l'organisation internationale de normalisation (ISO) dans la norme 5725 (46) comme suit :

- La fidélité correspond à « l'étroitesse de l'accord entre les résultats d'essai. »
- La répétabilité correspond à la « fidélité sous des conditions de répétabilité », c'est-à-dire quand les résultats d'une analyse sont « obtenus par la même méthode [...] dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps. »
- La fidélité intermédiaire exprime la variabilité intra-laboratoire : analyse réalisée à des moments différents, par des opérateurs différents... au sein d'un même laboratoire.
- La justesse correspond à « l'étroitesse de l'accord entre la moyenne arithmétique d'un grand nombre de résultats d'essai et la valeur de référence vraie ou acceptée. »
- L'exactitude correspond à « l'étroitesse d'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée. »

La répétabilité, la fidélité intermédiaire et la justesse ont été réalisées à l'aide de deux contrôles de qualité internes (CQI) XN CHECK (BF) niveau bas et XN CHECK (BF) niveau normal.

Les résultats étaient conformes aux limites fixées par le laboratoire, c'est-à-dire un coefficient de variation (CV) de répétabilité et de fidélité intermédiaire inférieur à 4% pour les RBC-BF et inférieur à 7% pour les TC-BF et WBC-BF ; biais inférieur à 5% pour ces 3 paramètres (Tableaux 10,11,12). L'exactitude a été déterminée à l'aide des résultats de contrôles de qualité externes (EEQ BODY FLUID CELLS EUROCELL2020). Les résultats étaient conformes aux limites fixées

par le laboratoire (Tableau 13). L'évaluation de l'incertitude de mesure par méthode CQI-EEQ est en cours, dans l'attente de données d'EEQ supplémentaires.

Tableau 10 : Étude de la répétabilité de la technique automatisée (dossier de validation de méthode)

REPETABILITE

30 déterminations successives de 2 CIQ trousse passés réalisées le 06/09/2018 :
 Niveau 1 (N1): XN CHECK (BF) level bas lot -82041301
 Niveau 2 (N2): XN CHECK (BF) level normal lot -82041302

REPETABILITE								
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons		Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
RBC-BF	N1	30	26 000	600	2.39	40	4	Conforme
	N2	30	75 000	1400	1.84	40	4	Conforme
TC-BF	N1	30	79	4.1	5.19	10	7	Conforme
	N2	30	322	11.2	3.47	10	7	Conforme
WBC-BF	N1	30	79	4.1	5.19	10	7	Conforme
	N2	30	322	11.2	3.47	10	7	Conforme

Tableau 11 : Étude de la fidélité intermédiaire de la technique automatisée (dossier de validation de méthode)

FIDELITE INTERMEDIAIRE

CIQ trousse sur la période du 27/04/2020 au 19/06/2020
 Niveau 1 (N1): XN CHECK (BF) level bas lot 00901301
 Niveau 2 (N2): XN CHECK (BF) level normal lot 00901302

FIDELITE INTERMEDIAIRE								
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>								
Echantillons		Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
RBC-BF	N1	41	26 000	800	3.2	35	4	Conforme
	N2	44	76 000	1 200	1.5	25	4	Conforme
TC-BF	N1	41	82	5	6.1	35	7	Conforme
	N2	44	303	10	3.3	25	7	Conforme
WBC-BF	N1	41	82	5	6.1	35	7	Conforme
	N2	44	303	10	3.3	25	7	Conforme

Tableau 12 : Étude de la justesse de la technique automatisée (dossier de validation de méthode)JUSTESSE

CIQ trousse sur la période du mois de mai 2020
 Niveau 1 (N1): XN CHECK (BF) level bas lot 00901301
 Niveau 2 (N2): XN CHECK (BF) level normal lot 00901302

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>										
Echantillons		Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	SDI	Biais (%) Limite	Conclusion
RBC- BF	N1	24	25.8	25.7	0.38	NA	NA	0.036	5	Conforme
	N2	24	75.7	76.6	-1.17	NA	NA	-0.33	5	Conforme
TC- BF	N1	24	82.7	79.8	3.63	NA	NA	0.418	5	Conforme
	N2	24	301.5	307.1	-1.82	NA	NA	-0.317	5	Conforme
WBC -BF	N1	24	82.7	79.8	3.63	NA	NA	0.418	5	Conforme
	N2	24	301.5	307.1	-1.82	NA	NA	-0.317	5	Conforme

Tableau 13 : Étude de l'exactitude de la technique automatisée (dossier de validation de méthode)EXACTITUDE

EEQ BODY FLUID CELLS EUROCELL2020 : numération des hématies et des leucocytes, se présentant sous la forme de 2 tubes de 3 ml avec une fréquence d'envoi biannuelle
 Comparaison toute technique et groupe de pairs

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>										
Echantillons		Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite	Z Score	Note	Conclusion
RBC- BF	2002B1	57000	56364	56048	1.13	1.70	5	0.367	TB+	Conforme
	2002B2	13000	13290	13392	-2.18	-2.93	5	-0.351	TB-	Conforme
WBC -BF	2002B1	3355	3180	3173	5.50	5.73	5	1.472	AB+	Acceptable
	2002B2	238	232	233	2.58	2.15	5	0.493	TB+	Conforme

D'après la documentation de Sysmex®(47), la limite de détection et de quantification des RBC se situe à $2000 \cdot 10^6/L$, mais notre automate rend ses résultats à partir de $1000 \cdot 10^6/L$. La limite de détection des TC et des WBC est de $2 \cdot 10^6/L$ (limite de quantification à $3 \cdot 10^6/L$). La limite supérieure de linéarité est de $5\,000\,000 \cdot 10^6/L$ pour les RBC et de $10\,000 \cdot 10^6/L$ pour les TC et les WBC (47). La limite inférieure de linéarité est à 0 pour tous ces paramètres. L'étude de contamination inter-échantillon a mis en évidence l'absence de contamination.

Des interférences de la numération des TC et des WBC causées par des liposomes (48) ou des levures (49) sont décrites.

4.1. Comparaison des méthodes

Dans le but de réaliser la comparaison des méthodes, nous avons analysé en parallèle, par technique manuelle et automatisée, des liquides pleuraux et des liquides d'ascite adressés en routine au laboratoire sur les périodes d'octobre-novembre 2019 et janvier-mars 2020. Tous les liquides ont été analysés sur l'automate et analysés au moins une fois en technique manuelle. Aucun liquide articulaire n'a été testé en raison de la viscosité de ce type de liquide (risque de bouchage de l'aiguille de prélèvement de l'automate), et de l'absence de procédure définie. Les LCR ont été exclus en raison du trop faible volume d'échantillon et de la limite de détection des RBC en technique automatisée inadaptée.

Les statistiques ont été réalisées à l'aide de Microsoft® Excel® 2016, à l'exception des tests de Student réalisées à l'aide du site internet STHDA (50).

Nous avons étudié la corrélation linéaire entre les deux techniques, pour chaque paramètre. La corrélation linéaire est le reflet de la liaison linéaire de deux variables statistiques. La corrélation est exprimée par le coefficient de Pearson, compris entre 0 et 1. Un coefficient proche de 0 signe l'absence de corrélation linéaire entre les deux variables, tandis qu'un coefficient proche de 1 montre une corrélation linéaire parfaite. Ainsi, plus le coefficient de Pearson est proche de 1 plus la corrélation linéaire est forte. Pour chaque paramètre étudié, nous recherchions une corrélation forte des valeurs obtenues par la technique manuelle avec celles obtenues par la technique automatisée, dans le but de valider cette dernière. Nous avons représenté la régression linéaire à l'aide de graphiques présentant les valeurs de la technique automatisée en fonction des valeurs de la technique manuelle (microscopie optique).

Suivant les recommandations de Sandhaus (3), nous avons évalué la concordance en quantifiant le biais moyen entre les deux techniques, à l'aide de diagrammes de Bland-Altman représentant la différence des valeurs obtenues par les deux techniques en fonction de leur moyenne (51). Le biais moyen représente la différence moyenne des valeurs rendues par les deux techniques, pour chaque paramètre. Les limites d'« agrément » inférieure et supérieure, calculées par la formule « Biais moyen \pm (1.96 x écart-type) », délimitent la zone dans laquelle se situent 95% des écarts entre les deux techniques (intervalle de confiance à 95%). Les patients pour lesquels des biais hors de cet intervalle ont été observés sont décrits en partie 5 (Description de la cohorte de patients) et synthétisés dans le tableau 14.

Nous avons comparé la valeur moyenne de tous les échantillons, pour chaque paramètre, rendue par chaque technique, à l'aide du test de Student. Il existe une différence statistiquement significative entre les moyennes lorsque $p < 0.05$. Afin de valider la technique automatisée, nous attendions que la moyenne des résultats obtenus par cette technique ne soit pas statistiquement différente de la moyenne des résultats obtenus par la technique manuelle.

Les analyses concernées par ces analyses statistiques sont la numération des RBC, TC, WBC, MN et PMN (paramètres de routine), et la numération des PNN, PNE, LY, MON et HF (paramètres de recherche).

4.1.1. Paramètres de routine

Nous avons analysé de façon prospective 40 liquides d'ascite et 26 liquides pleuraux. Un liquide d'ascite et un liquide pleural ont été exclus en présence d'éléments qui interféraient avec le résultat de l'automate (nombreuses cellules lysées à l'examen microscopique) : les

numérations leucocytaires manuelle et automate étaient très discordantes et les graphiques de l'automate étaient anormaux (Figure 9).

La numération manuelle des RBC et des TC était réalisée deux fois par deux opérateurs différents et la moyenne des résultats a été utilisée pour l'analyse statistique, dans le but de minimiser l'impact des erreurs opérateur-dépendantes : ainsi les liquides dénombrés par un seul opérateur ont été exclus de l'analyse.

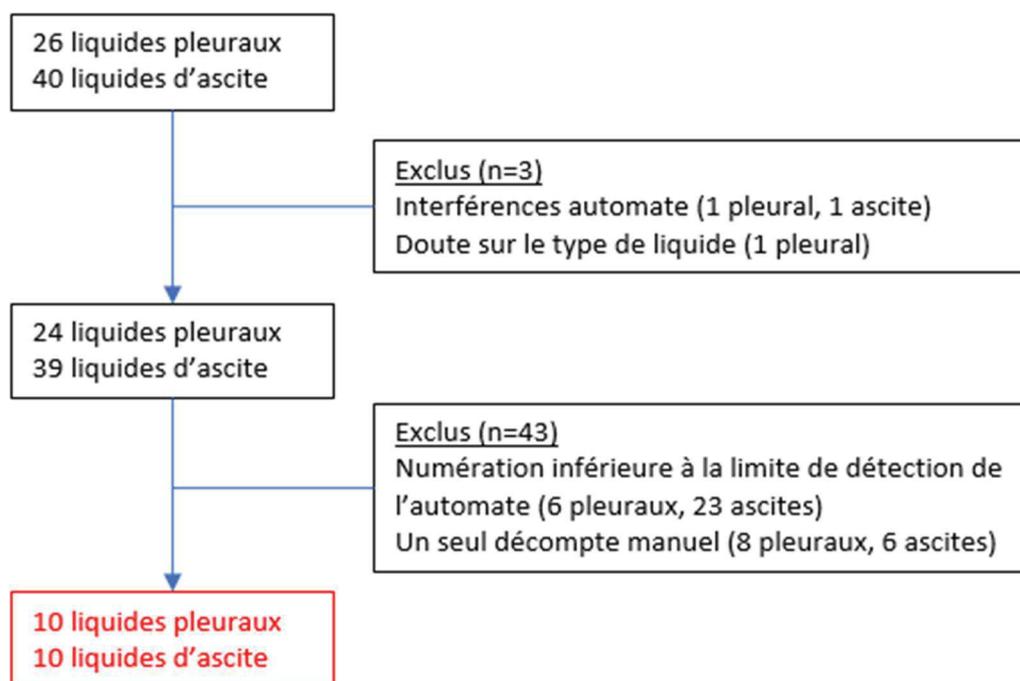
La numération manuelle des WBC n'a été réalisée que par un opérateur unique pour des raisons de faisabilité : en effet ce paramètre n'est pas réalisé en routine et aucun opérateur supplémentaire n'était disponible au moment de l'analyse. Ainsi, pour ce paramètre, les liquides dénombrés une seule fois n'ont pas été exclus de l'analyse.

Les liquides ont tous été analysés par technique automatisée sur le site de Haute-pierre et les liquides transmis par le site du NHC ont été décomptés en technique manuelle une première fois avant envoi (RBC et TC). La formule leucocytaire de chaque liquide a été réalisée une fois sur le site de réception initial de l'échantillon.

4.1.1.1. Hématies

Nous avons comparé la numération des RBC sur 10 liquides pleuraux et 10 liquides d'ascite : les liquides ayant une numération en-dessous de la limite de détection de l'automate ($1000 \cdot 10^6/L$) et les liquides dont la numération manuelle a été réalisée par un seul opérateur, au lieu de deux, ont été exclus de l'analyse (Figure 16).

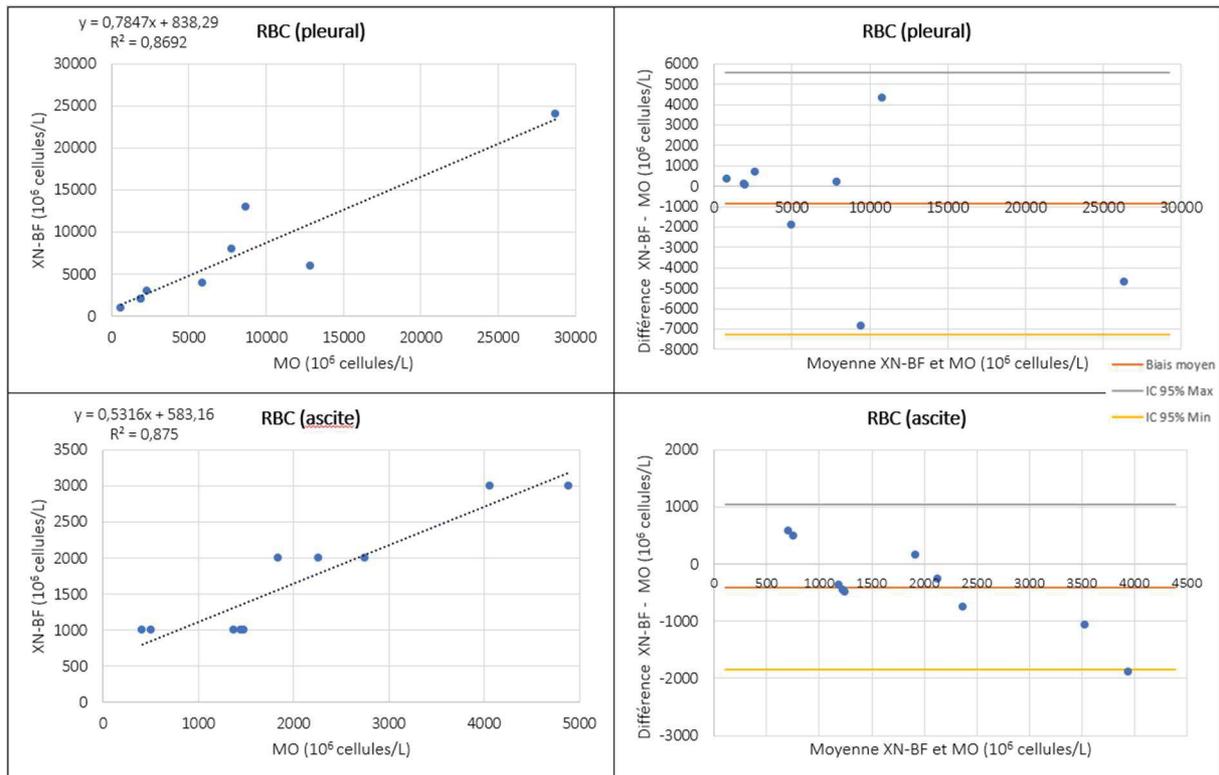
Figure 16 : Flow-chart des échantillons pour la numération des RBC



La numération moyenne des RBC dans les liquides pleuraux n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.2182$) qui sont bien corrélées ($r = 0.973$). Le biais moyen est important avec une valeur de -1827.10^6 RBC/L (écart type (ET) de 4364). Ce biais moyen est réduit à -853.10^6 RBC/L (ET 3278) (Figure 17) après exclusion du patient 7 (Tableau 14, ANNEXE 1) qui présentait une numération élevée dans les deux techniques : 44595.10^6 RBC/L en technique manuelle contre 34000.10^6 RBC/L en technique automatisée. De même, la numération moyenne des RBC dans les liquides d'ascite n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.1202$) qui sont bien corrélées ($r = 0.935$). Le biais moyen est de -401.10^6 RBC/L (ET 738).

On observe que la concordance entre les deux techniques diminue avec l'augmentation de la cellularité : le biais moyen augmente fortement dans les deux sens à partir d'une numération supérieure à $10\,000.10^6$ RBC/L.

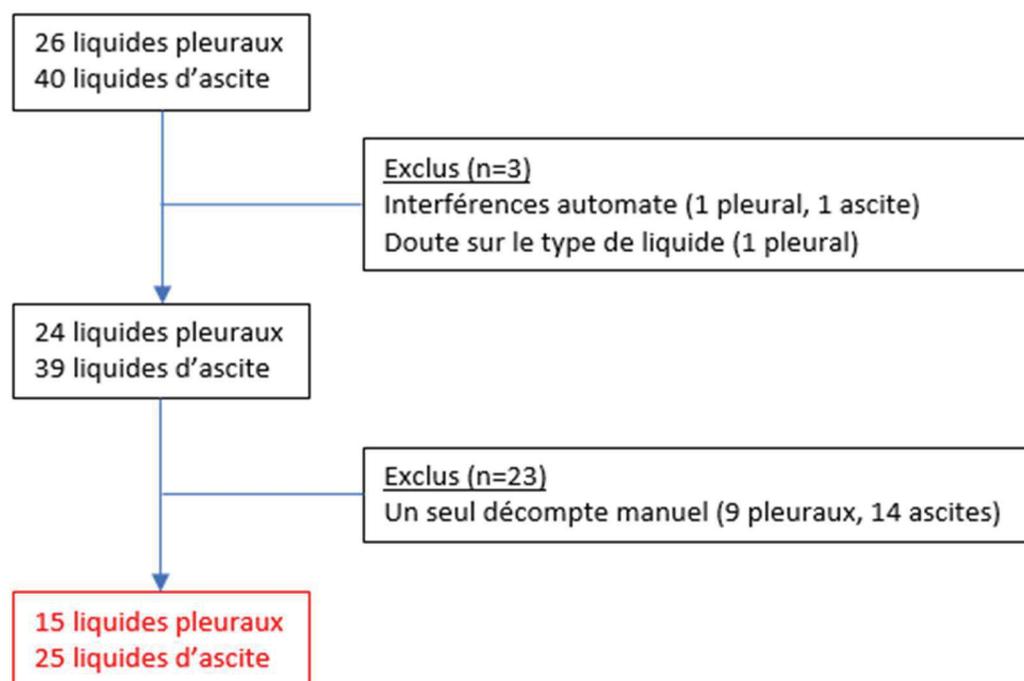
Figure 17 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des RBC



4.1.1.2. Cellules nucléées

Nous avons comparé la numération des TC (pour mémoire, addition des WBC et HF) sur 15 liquides pleuraux et 25 liquides d'ascite : les liquides dont la numération manuelle a été réalisée par un seul opérateur ont été exclus de l'analyse (Figure 18).

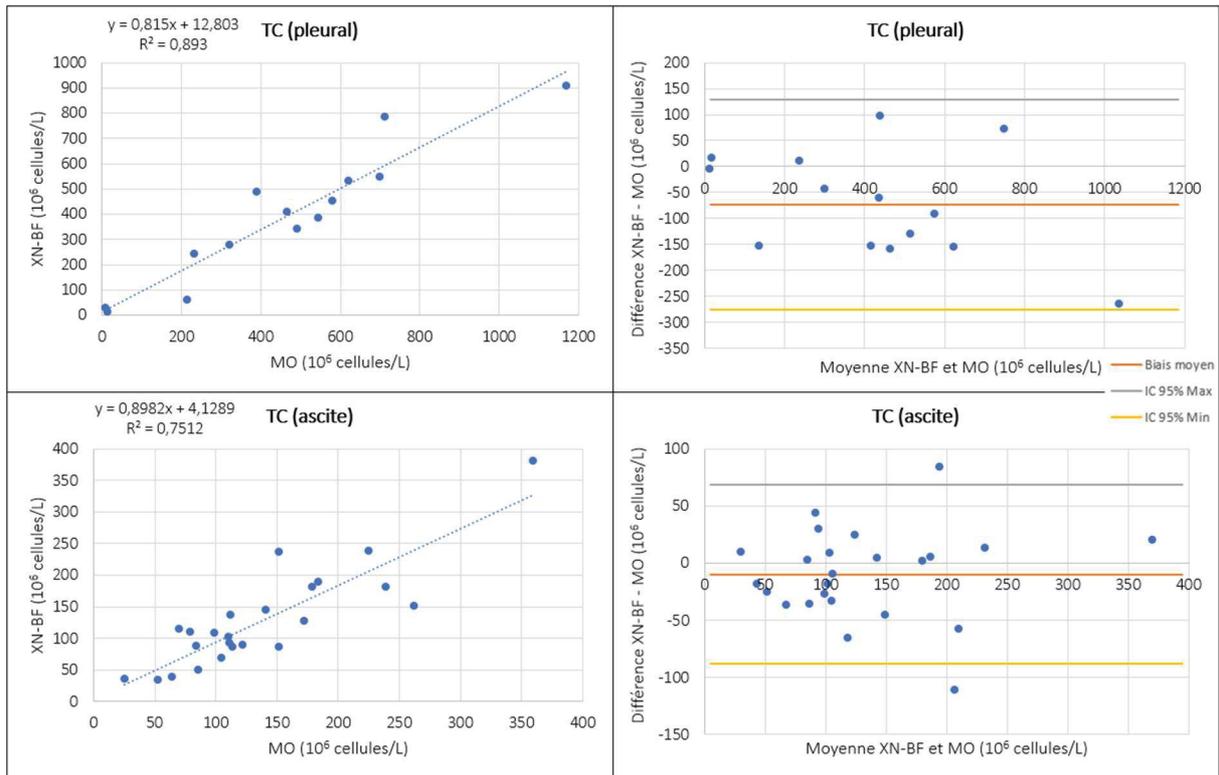
Figure 18 : Flow-chart des échantillons pour la numération des TC



La numération moyenne des TC dans les liquides pleuraux n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.1709$) qui sont bien corrélées ($r = 0.994$). Le biais moyen est de -230.10^6 TC/L (ET617). Ce biais moyen est réduit à $-9.9.10^6$ TC/L (ET 40) (Figure 19) après exclusion du patient 16 qui présentait une numération élevée dans les deux techniques (Tableau 14) : 6380.10^6 TC/L en technique manuelle contre 3949.10^6 TC/L en technique automatisée. De même, la numération moyenne des TC dans les liquides d'ascite n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.2263$) qui sont bien corrélées ($r = 0.996$). Le biais moyen est de -46.10^6 TC/L (ET 187). Ce biais moyen est réduit à $-9.9.10^6$ TC/L (ET 40) (Figure 19) après exclusion du patient 49 qui présentait une numération élevée dans les deux techniques (Tableau 14) : 3255.10^6 TC/L en technique manuelle contre 2330.10^6 TC/L en technique automatisée.

On observe que la concordance entre les deux techniques diminue avec l'augmentation de la cellularité : le biais moyen augmente fortement à partir d'une numération de 2000.10^6 TC/L.

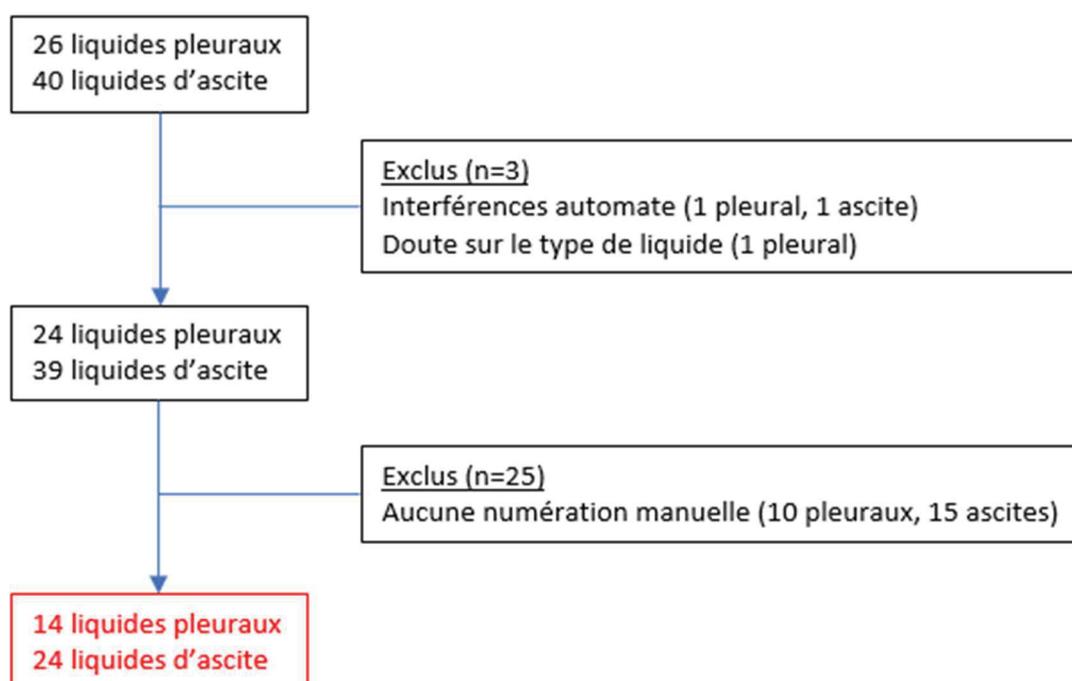
Figure 19 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des TC



4.1.1.3. Leucocytes

Nous avons comparé la numération des WBC sur 14 liquides pleuraux et 24 liquides d'ascite : les liquides dont la numération manuelle des WBC n'a pas été réalisée ont été exclus de l'analyse (Figure 20).

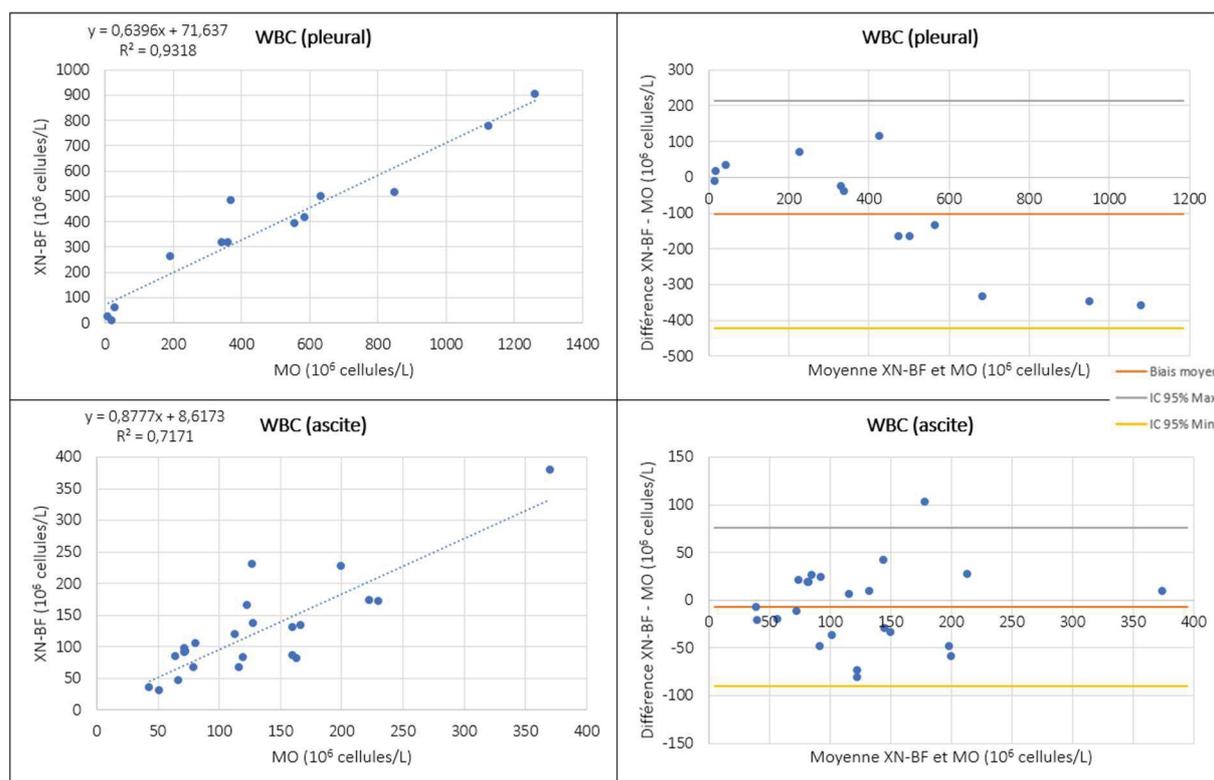
Figure 20 : Flow-chart des échantillons pour la numération des WBC



La numération moyenne des WBC dans les liquides pleuraux n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.1051$) qui sont bien corrélées ($r = 0.998$). Le biais moyen est de -228.10^6 WBC/L (ET 490). Ce biais moyen est réduit à -104.10^6 WBC/L (ET 162) (Figure 21) après exclusion du patient 16, à l'image de l'analyse des TC, qui présentait une numération élevée dans les deux techniques (Tableau 14) : 5760.10^6 WBC/L en technique manuelle contre 3918.10^6 WBC/L en technique automatisée. De même, la numération moyenne des TC dans les liquides d'ascite n'est pas statistiquement différente entre les deux techniques ($p = 0.2$) qui sont bien corrélées ($r = 0.996$). Le biais moyen est de -15.10^6 WBC/L (ET 57). Ce biais moyen est réduit à -7.10^6 WBC/L (ET 42) (Figure 21) après exclusion du patient 49 qui présentait une numération élevée dans les deux techniques (Tableau 14) : 2510.10^6 WBC/L en technique manuelle contre 2313.10^6 WBC/L en technique automatisée.

On observe que la concordance diminue avec la cellularité du liquide : le biais augmente fortement à partir de 2500.10^6 WBC/L.

Figure 21 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la numération des WBC



4.1.1.4. PMN et MN

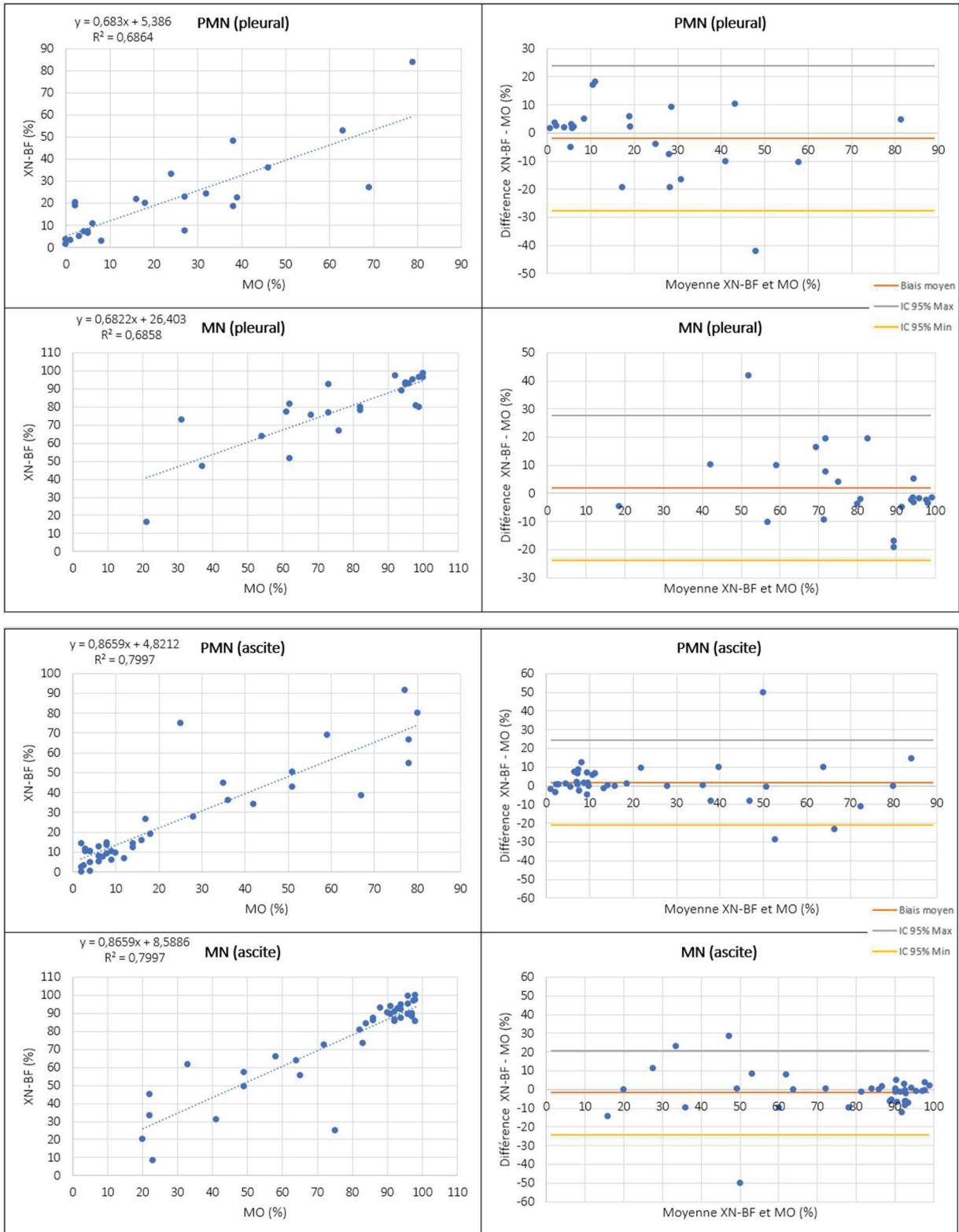
Nous avons comparé la formule approchée sur 24 liquides pleuraux et 39 liquides d'ascite. Il faut noter que les paramètres PMN (PNN+PNE) et MN (LY+MON+macrophages) sont complémentaires l'un de l'autre et que leur total est toujours égal à 100%.

Dans les liquides pleuraux, il n'y a pas de différence statistiquement significative de la mesure moyenne des PMN ($p = 0.4842$) et des MN ($p = 0.4756$) entre les deux techniques. Elles sont relativement bien corrélées (PMN : $r = 0.829$; MN : $r = 0.828$) avec un biais moyen de -1.9 (ET 13) points de pourcentages pour les PMN et 1.9 (ET 13) points pour les MN (Figure 22). Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 21 (Tableau 14) pour lequel la formule est inversée d'une technique à l'autre (majorité de PMN dans une technique, majorité de MN dans l'autre).

Dans les liquides d'ascite, il n'y a pas de différence statistiquement significative de la mesure moyenne des PMN et des MN ($p = 0.3599$) entre les deux techniques. Elles sont relativement bien corrélées (PMN et MN : $r = 0.894$) avec un biais moyen de 1.7 points de pourcentages pour les PMN et -1.7 points pour les MN (Figure 22). Les points hors intervalle de confiance à 95% correspondent aux patients 25 (échantillon b), 40 et 38 pour lesquels la formule est inversée d'une technique à l'autre (Tableau 14).

A noter que la concordance des valeurs des PMN est meilleure pour les faibles pourcentages à l'inverse des cellules mononucléées pour lesquels la concordance est meilleure dans les forts pourcentages.

Figure 22 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la formule leucocytaire approchée



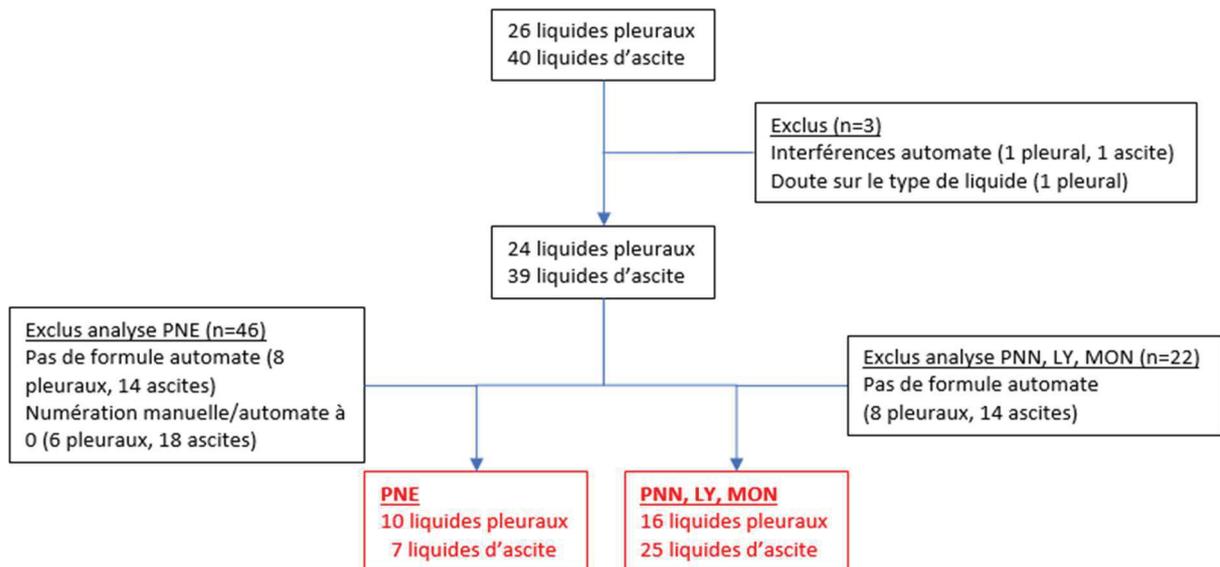
4.1.2. Paramètres de recherche

Sur le modèle des paramètres de routine, nous avons évalué les performances de l'automate pour l'analyse de la formule leucocytaire et de la numération des cellules de haute fluorescence.

4.1.2.1. Formule leucocytaire

Nous avons comparé la formule leucocytaire, à l'exception des PNE, sur 16 liquides pleuraux et 25 liquides d'ascite : les liquides pour lesquels nous n'avons pas accès aux données automate (purge de la mémoire du logiciel E-IPU) ont été exclus de l'analyse. Pour l'analyse des PNE nous avons également exclu les liquides dans lesquels aucun PNE n'a été mis en évidence en technique manuelle et automatisée.

Figure 23 : Flow-chart des échantillons pour la formule leucocytaire



L'analyse des PNN dans les liquides pleuraux montre une assez bonne corrélation ($r = 0.882$) et l'absence de différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 19%, automate 18%, $p = 0.4148$), avec un biais moyen de -1.9 (ET 9) points de pourcentage. L'analyse des PNN dans les liquides d'ascite montre une bonne

corrélation ($r = 0.943$) et l'absence de différence statistiquement significative entre les deux techniques (moyenne manuelle 18%, automate 19%, $p = 0.5347$), avec un biais moyen de 0.9 (ET 7) points. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 38 (Tableau 14).

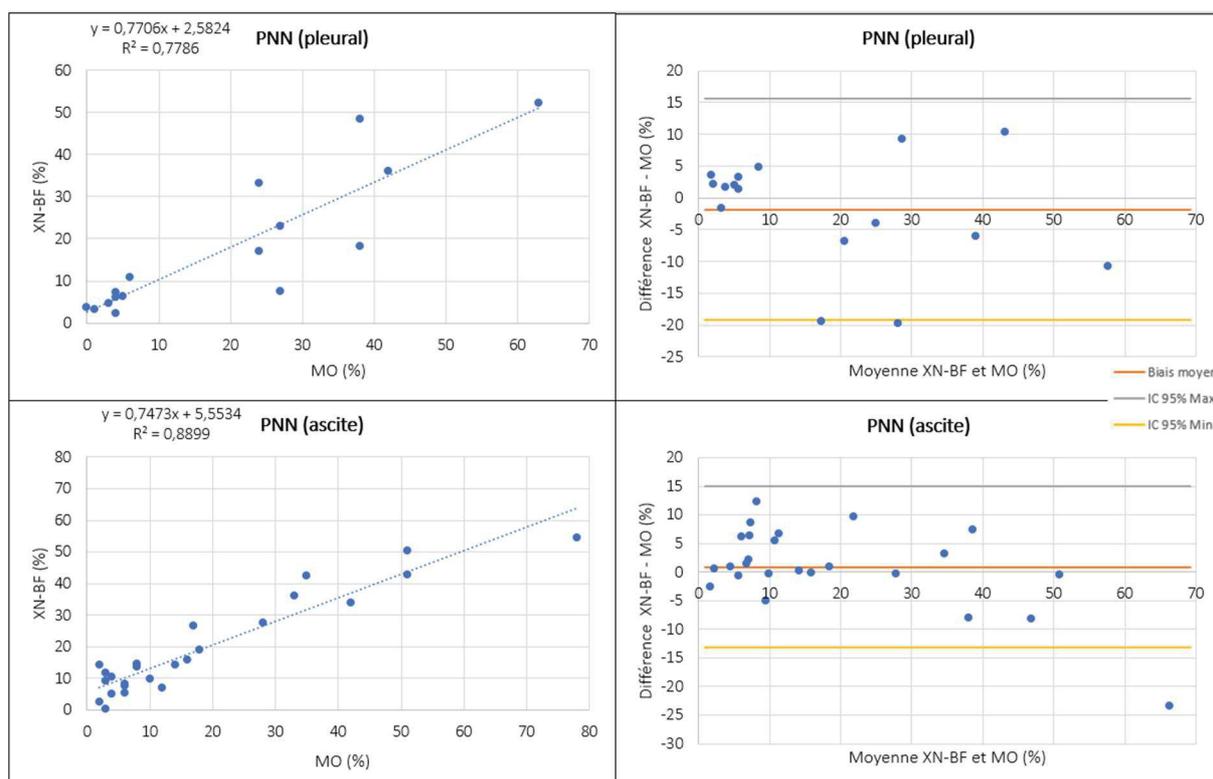
L'analyse des PNE dans les liquides pleuraux montre une bonne corrélation ($r = 0.962$) et l'absence de différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 5%, automate 3%, $p = 0.0662$), avec un biais moyen de -2.7 (ET 4) points de pourcentage. L'analyse des PNE dans les liquides d'ascite montre une mauvaise corrélation ($r = 0.486$), bien qu'il n'y ait pas de différence statistiquement significative entre les deux techniques (moyenne manuelle 0.7%, automate 0.6%, $p = 0.8336$), avec un biais moyen de -0.1 (ET 1.7) points.

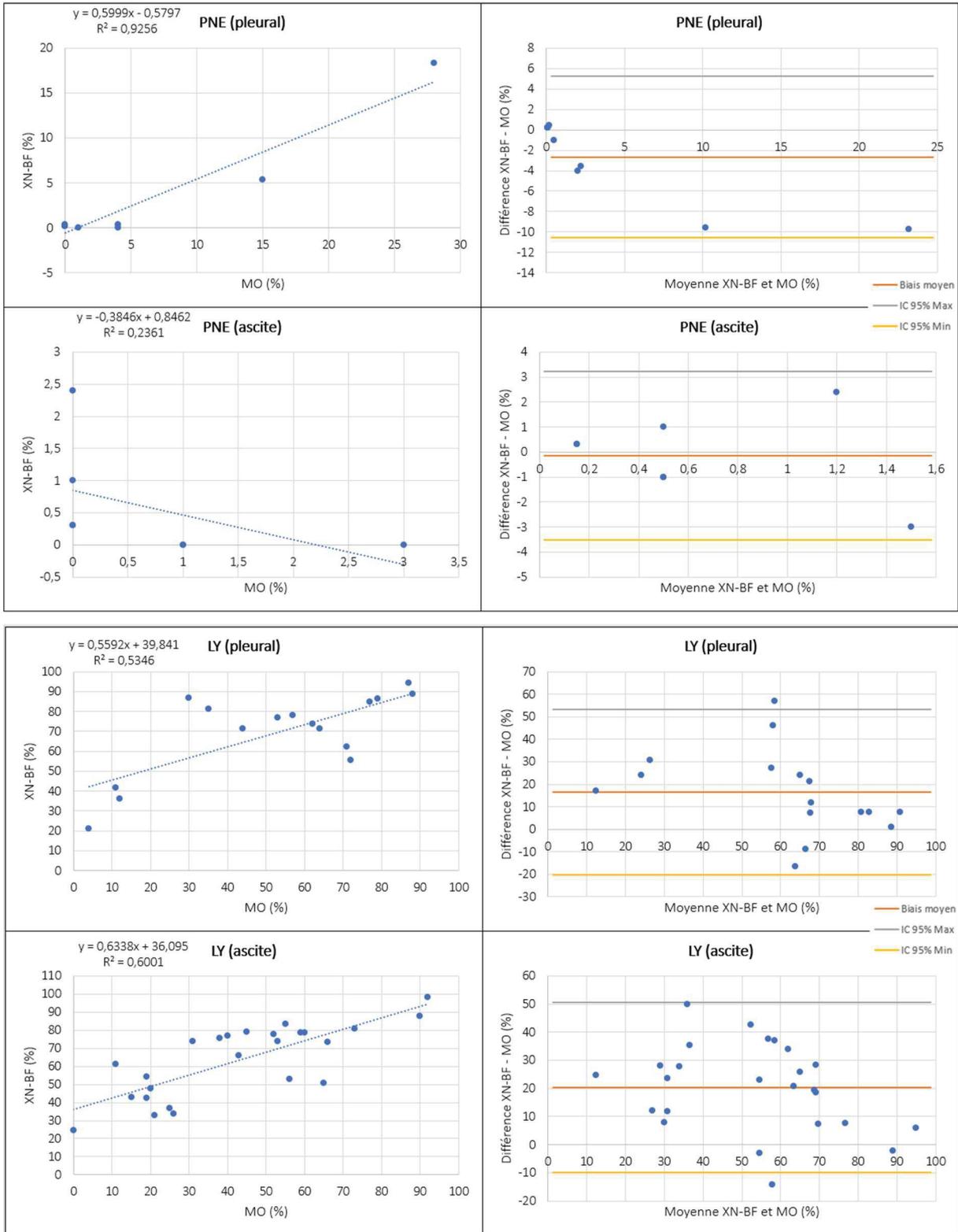
L'analyse des LY dans les liquides pleuraux montre une mauvaise corrélation ($r = 0.731$) et une différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 53%, automate 69%, $p = 0.0031$), avec un biais moyen de 17 (ET 19) points de pourcentage. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 8 (Tableau 14). L'analyse des LY dans les liquides d'ascite montre une mauvaise corrélation ($r = 0.775$) et une différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 43%, automate 63%, $p = 7.778 \cdot 10^{-7}$), avec un biais moyen de 20 (ET 15) points. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 27 (Tableau 14).

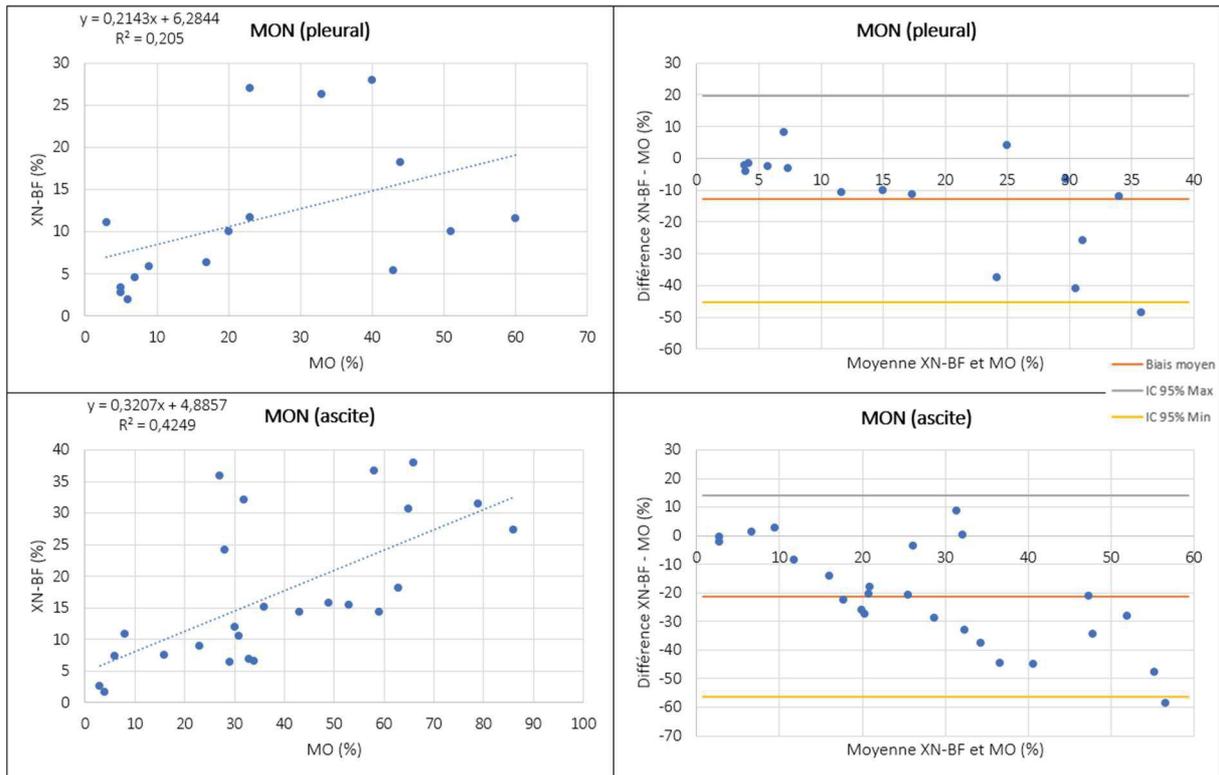
L'analyse des MON dans les liquides pleuraux montre une absence de corrélation ($r = 0.453$) et une différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 24%, automate 11%, $p = 0.0075$), avec un biais moyen de -13 (ET 17) points de pourcentage. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 3

(Tableau 14). L'analyse des MON dans les liquides d'ascite montre une absence de corrélation ($r = 0.65$) et une différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 38%, automate 17%, $p = 4.141.10^{-6}$), avec un biais moyen de -21 (ET 18) points. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 39 (Tableau 14).

Figure 24 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman de la formule leucocytaire



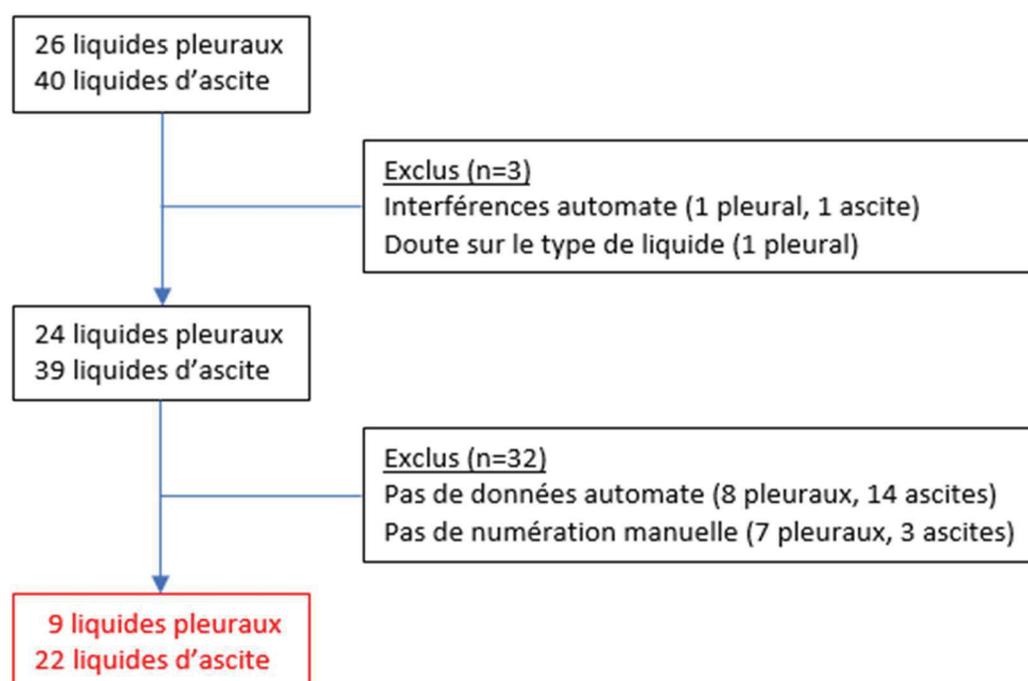




4.1.2.2. Cellules de haute fluorescence

Nous avons comparé le décompte des cellules de haute fluorescence (CM, cellules pathologiques, macrophages) sur 9 liquides pleuraux et 22 liquides d'ascite : les liquides pour lesquels nous n'avons pas pu récupérer les données automate et les liquides pour lesquels nous n'avons pas de décompte manuel, ont été exclus de l'analyse.

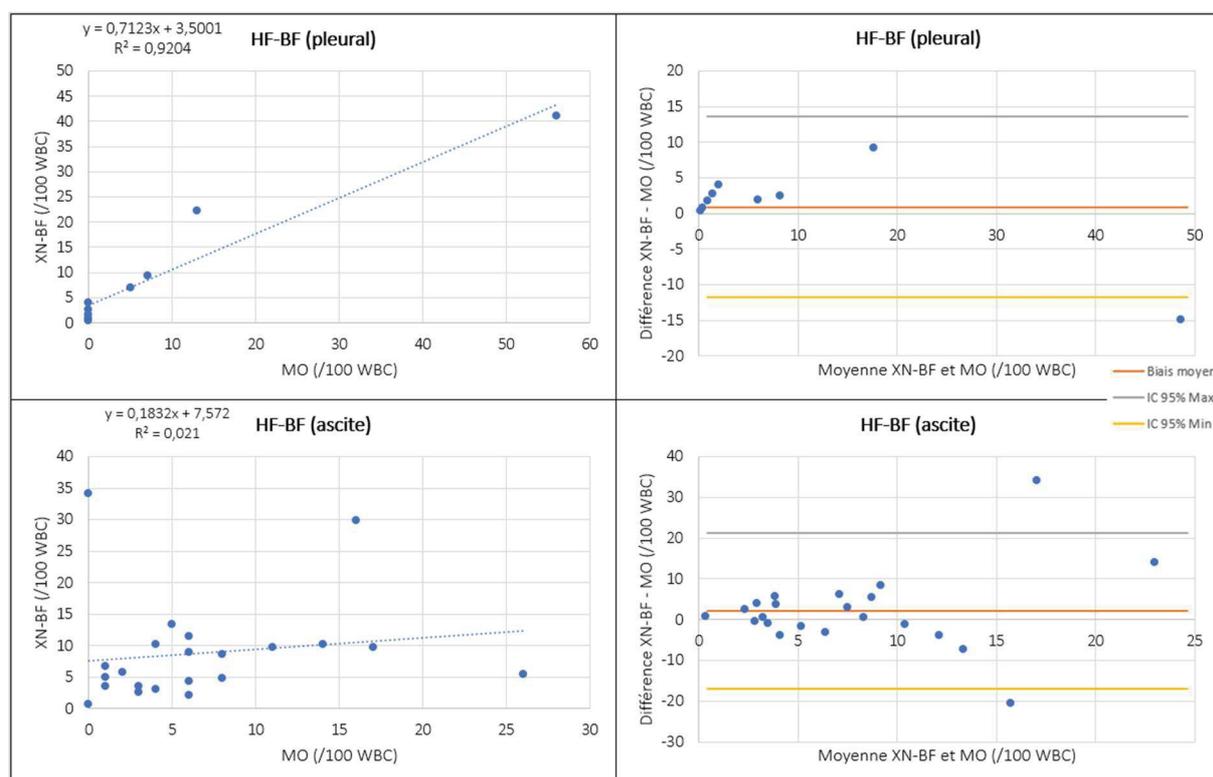
Figure 25 : Flow-chart des échantillons pour les cellules de haute fluorescence



L'analyse des HF dans les liquides pleuraux montre une bonne corrélation ($r = 0.959$) et l'absence de différence statistiquement significative entre les moyennes des deux techniques (moyenne manuelle 9 HF/100 WBC, automate 10 HF/100 WBC, $p = 0.6841$), avec un biais moyen de 0.9 (ET 6.5) HF/100 WBC. Le point hors intervalle de confiance à 95% correspond au patient 7 (Tableau 14).

L'analyse des HF dans les liquides d'ascite montre une absence de corrélation ($r = 0.145$) malgré l'absence de différence statistiquement significative entre les deux techniques (moyenne manuelle 7 HF/100 WBC, automate 9 HF/WBC, $p = 0.3293$), avec un biais moyen de 2 (ET 10) HF/100 WBC. Les points hors intervalle de confiance à 95% correspondent aux patients 28 et 48 (Tableau 14).

Figure 26 : Régression linéaire et diagramme de Bland-Altman des cellules de haute fluorescence



Les liquides avec des cellules pathologiques (4 liquides pleuraux) sont présentés dans le tableau 15. Ils avaient une moyenne de HF-BF de 23.35 HF/100 WBC soit $90.75 \cdot 10^6$ cellules/L (écart-type 47.51, CV 52.3.).

Tableau 14 : Résumé des patients avec biais de mesure importants

Patient	Discordance entre les techniques	Cause possible
3	majorité de MON en technique manuelle majorité de LY en technique automatisée	sous-estimation du décompte de MON par l'automate
7	RBC et HF : biais hors IC 95%	RBC : sur-estimation par la technique manuelle HF : sous-estimation par l'automate
8	majorité de MON en technique manuelle majorité de LY en technique automatisée	sous-estimation du décompte de MON par l'automate
16	TC et WBC : biais hors IC 95%	sur-estimation par la technique manuelle
21	majorité de PMN en technique manuelle majorité de MN en technique automatisée	destruction des cellules mononucléées pendant la centrifugation répartition cellulaire inhomogène sur la lame de cytologie
25 (b)	MN : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
27	LY : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
28	HF : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
38	MN et PNN : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
39	MON : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
40	MN : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
48	HF : biais hors IC 95%	classification imprécise des cellules nucléées par l'automate
49	TC et WBC : biais hors IC 95%	sur-estimation par la technique manuelle

Tableau 15 : Numération WBC et HF des liquides présentant des métastases au laboratoire

Patients	HF/100 WBC	WBC x 10⁶/L	HF x 10⁶/L
3	6.9	318	21.94
5a	12.6	859	108.23
5b	32.8	311	102.00
7	41.1	319	131.10

5. DESCRIPTION DE LA COHORTE DE PATIENTS

Notre travail de validation des méthodes a été l'occasion de caractériser la population de patients pour laquelle des liquides sont adressés en routine au laboratoire d'hématologie : le type de liquide reçu, les services demandeurs, le contexte clinique des patients. Pour la série des liquides analysés, c'est-à-dire 26 liquides pleuraux et 40 liquides d'ascite, nous avons comparé les résultats obtenus en hématologie à ceux obtenus en biochimie, microbiologie et AP ainsi qu'à la clinique et l'imagerie (ANNEXE 3). Le diagnostic des liquides d'épanchement est avant tout un diagnostic pluridisciplinaire, c'est pourquoi l'analyse isolée de nos résultats d'hématologie aurait été moins pertinente. Cette étude a été enregistré sous le numéro 20-081 au registre des traitements de données des HUS.

Afin de mieux représenter les données épidémiologiques des liquides nous avons classés les différents liquides selon le contexte clinique du patient (histoire de malignité ou suspicion de malignité, infection, cirrhose...).

5.1. Liquide pleural

La majorité des liquides provenaient du service de pneumologie (9 liquides) pour exploration d'une néoplasie, ou de la réanimation médicale (7 liquides) dans le cadre d'une détresse respiratoire aiguë. Les autres liquides provenaient de services divers : service de réanimation néonatale (2 liquides), service d'obstétrique (1 liquide fœtal), service des urgences (2 liquides), service d'hépto-gastrologie (2 liquides), service de médecine interne (2 liquides), service des maladies infectieuses (1 liquide).

5.1.1. Contexte de néoplasie

Douze liquides pleuraux ont été prélevés chez onze patients dans un contexte de néoplasie : trois patients avaient un diagnostic de néoplasie pulmonaire (patients 2, 3 et 9), trois patients avaient un diagnostic de néoplasie non pulmonaire (patients 5, 10 et 11), un patient avait une hémopathie (patient 7), quatre patients avaient une suspicion de néoplasie (patients 1, 4, 6, 8).

Cinq patients présentaient des cellules anormales en cytologie hématologique (patients 3, 5 et 7) (figures 27-29) et/ou à l'examen anatomo-pathologique (patients 1, 2, 3, 5). Les patients 1 et 3 avaient une TDM montrant un cancer solide. Les patients 4 et 11 n'avaient pas de cellules anormales détectables dans leur liquide pleural et avaient une TDM montrant un cancer solide. Du point de vue clinique, la majorité des patients présentaient une dyspnée pouvant aller jusqu'à la détresse respiratoire, et parfois une altération de l'état général.

Figure 27 : cellules métastatiques d'ADK pulmonaire (flèches rouges), patient 3 (MGG, x100 à gauche, x500 à droite)

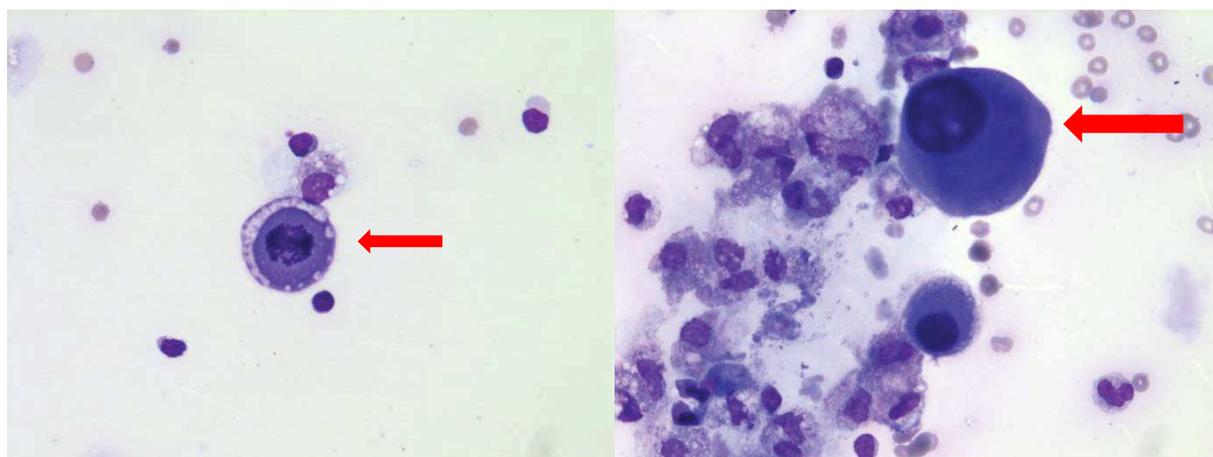


Figure 28 : amas cohésifs et cellules isolées métastatiques de cholangiocarcinome (flèches rouges), patient 5 (MGG, x100 à gauche, x500 à droite)

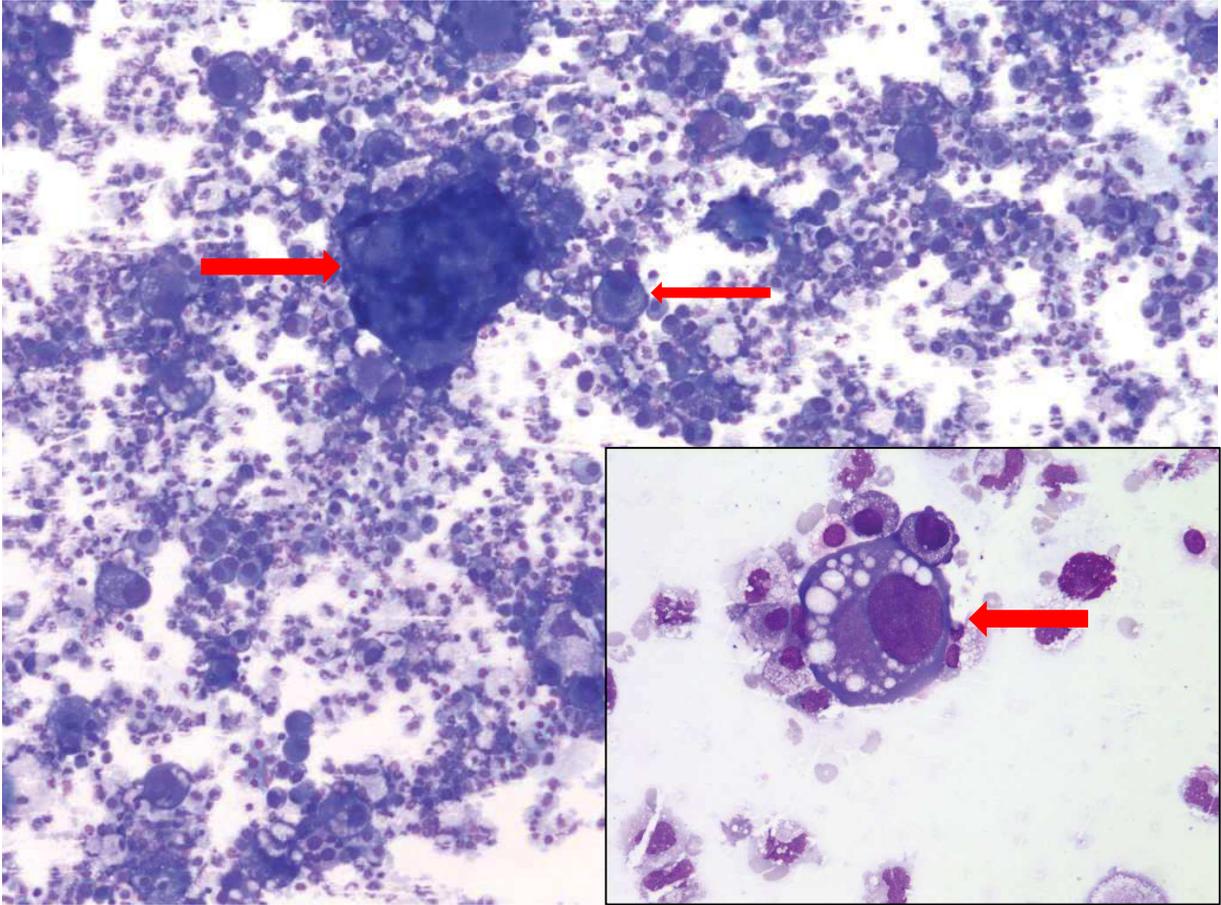
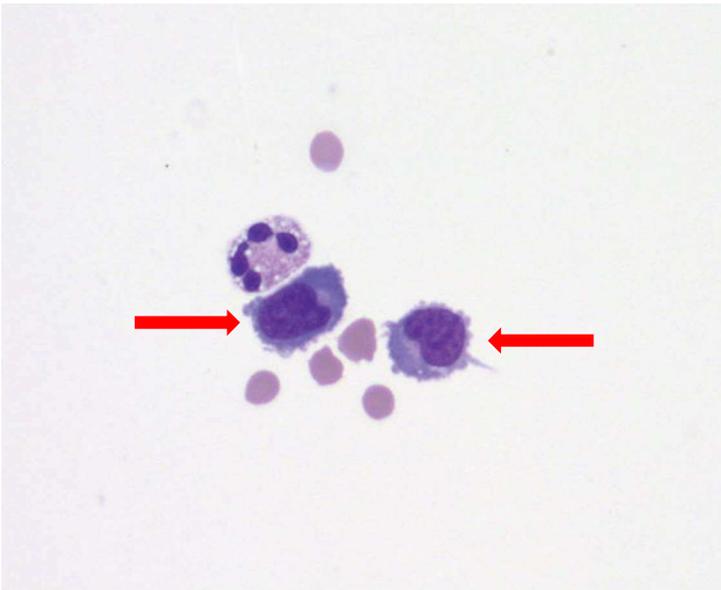
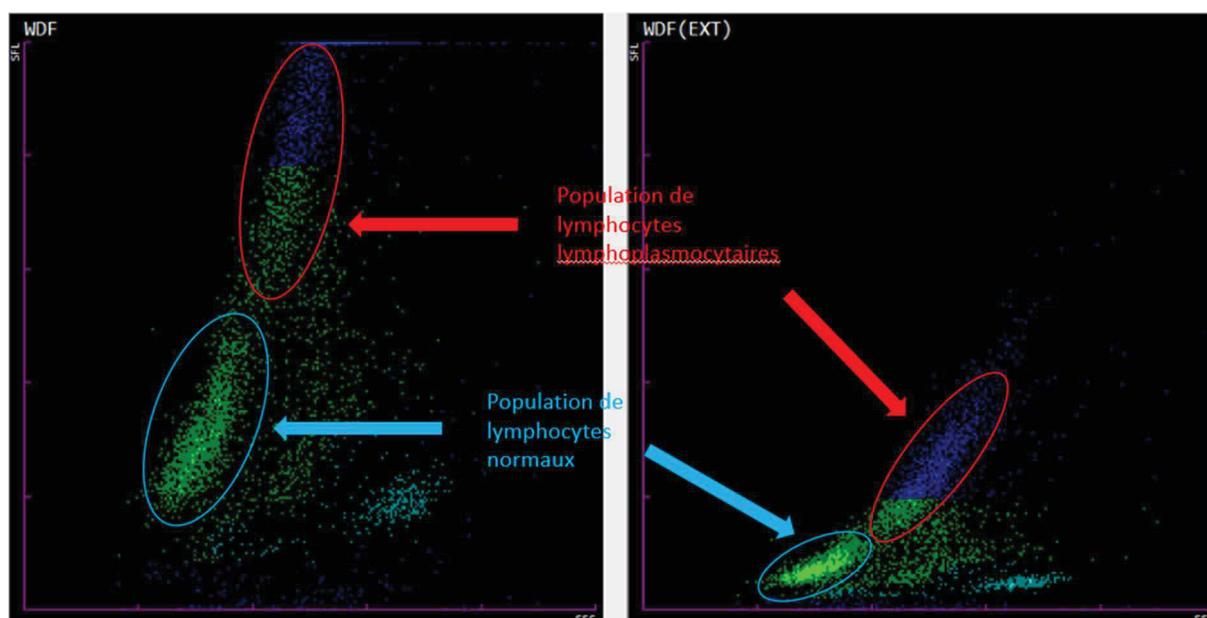


Figure 29 : Lymphocytes lymphoplasmocytaires (flèches rouges) (MGG, x500)



Parmi les patients pour lesquels des cellules pathologiques ont été mises en évidence au laboratoire d'hématologie, le patient 3 avait une formule leucocytaire à majorité de monomacrophages en technique manuelle et à majorité de LY en technique automatisée. Cette discordance, à l'origine d'un biais de mesure du paramètre MON exclu de l'intervalle de confiance à 95%, pourrait découler de la sous-estimation du décompte de MON par l'automate : ils pourraient être décomptés en cellules de haute fluorescence, ou non décomptés s'ils sont trop altérés. Les deux liquides prélevés chez le patient 5 avaient une formule constituée de plus de 90% de monomacrophages. Le liquide du patient 7 montrait 36% de cellules lymphoplasmocytaires (confirmé par la CMF), avec un biais de mesure du paramètre HF important et exclu de l'intervalle de confiance à 95%. Cela peut s'expliquer à l'aide du graphique de l'automate : une partie de la population de cellules pathologiques n'a pas été comptée en cellules de haute fluorescence (figure 30). Il existe également pour ce liquide un biais de mesure du paramètre RBC important et exclu de l'intervalle de confiance à 95%, probablement lié à la différence systématique de numération entre les deux techniques dans les liquides de forte cellularité.

Figure 30 : Graphique automate du patient 7



Parmi les patients dont les cellules pathologiques ont été détectées en immunohistochimie uniquement, le patient 1 présentait une formule leucocytaire à majorité de LY et le patient 2 une numération des TC très élevée ($7894 \cdot 10^6/L$), une formule à majorité de LY associée à plus de 10% de PNE, ces valeurs étant cohérentes avec l'infiltration néoplasique du liquide pleural.

Parmi les patients pour lesquels aucune cellule pathologique n'a pu être mise en évidence dans le liquide mais dont le diagnostic de néoplasie était confirmé à l'issue du bilan, le patient 4 présentait un liquide jaune, exsudatif, avec une formule leucocytaire à prédominance de LY compatible avec un envahissement néoplasique du liquide. Le patient 11 présentait un liquide hémorragique et exsudatif, avec une formule leucocytaire également à prédominance de LY, compatible avec un envahissement néoplasique du liquide. Le patient 10 avait un liquide jaune et très peu cellulaire, ce qui n'est pas en faveur d'une atteinte pulmonaire par la néoplasie mammaire connue.

Deux patients ont bénéficié d'un bilan dans le cadre d'une suspicion de mésothéliome. Le patient 6 présentait un liquide jaune orangé, exsudatif, une numération des TC très élevée

($4410.10^6/L$), une formule à majorité de LY associée à plus de 10% de PNE, ces valeurs étant compatibles avec une infiltration néoplasique du liquide pleural. Le patient 8 présentait un liquide orange, transsudatif. La technique manuelle retrouvait 30% de LY contre 87% pour la technique automatisée, ce qui constitue un biais de mesure important et situé hors de l'intervalle de confiance à 95%. Il pourrait s'expliquer par une sous-estimation du décompte des MON en technique automatisée (monomacrophages décomptés parmi les cellules de haute fluorescence ?). Les résultats ne sont pas en faveur d'une atteinte néoplasique pleurale, bien que le diagnostic de mésothéliome soit considéré comme probable à l'issue du bilan.

Au total, l'analyse de ces liquides pleuraux au laboratoire d'hématologie a permis de mettre rapidement en évidence des cellules pathologiques chez trois patients parmi les six patients concernés par un envahissement néoplasique du liquide pleural. La numération formule des liquides était cohérente avec les résultats de biochimie pour séparer les liquides suspects d'envahissement néoplasique des autres liquides.

5.1.2. Contexte infectieux

Nous avons analysé les liquides de trois patients prélevés dans un contexte infectieux.

Le patient 12 présentait une insuffisance respiratoire aiguë avec épanchement pleural droit. Le liquide était hématique et trouble, exsudatif, avait une formule leucocytaire panachée et plus de 10% de PNE, ce qui est compatible avec une infection bien que la valeur de TC n'atteigne pas le seuil de $1000.10^6/L$ (seuil en faveur d'une infection du liquide pleural). La culture bactérienne était négative mais l'état clinique du patient s'est amélioré après traitement antibiotique par Claforan + Métronidazole.

Le patient 13 présentait une détresse respiratoire sur pneumopathie d'inhalation. Il était sous traitement antibiotique au moment du prélèvement. Le liquide était trouble, avec des paramètres biochimiques à la limite entre l'exsudat et le transsudat mais une numération des RBC en faveur d'un exsudat ($> 10\,000 \cdot 10^6/L$). Ni la numération des TC ni la formule leucocytaire n'étaient en faveur d'une infection bactérienne (TC = $233 \cdot 10^6/L$ avec plus de 50% de LY). La culture bactérienne était négative. Ces résultats peu cohérents avec le tableau clinique sont probablement causés par la mise en place du traitement antibiotique avant le prélèvement.

Le patient 14 présentait une récurrence de pleuropéricardite tuberculeuse après un sevrage brutal en corticoïdes. Le liquide était jaune orangé, transsudatif, avec une numération formule compatible avec le diagnostic de TB (TC = $1660 \cdot 10^6/L$ avec plus de 50% de LY). La culture bactérienne et l'AP étaient négatives.

Chez les patients 12 et 13, la numération formule des liquides était peu contributive. Chez le patient 14, au contraire, elle allait dans le sens du diagnostic de rechute tuberculeuse.

5.1.3. Contexte de pathologie digestive

Nous avons étudié les liquides de deux patients avec cirrhose (patients 15 et 16), un patient avec insuffisance hépatocellulaire terminale (patient 17), deux patients avec pancréatite (aiguë pour le patient 18, chronique pour le patient 19) et un patient greffé hépatique (patient 20), causes plus rares mais classiques d'épanchement pleural.

Le patient 15 présentait un liquide jaune et transsudatif, avec une majorité de LY ce qui peut être le signe d'un épanchement chronique. Le patient 16 présentait un liquide trouble et exsudatif, avec une numération des TC élevée (TC $6381 \cdot 10^6/L$) et plus de 50% de LY, et une culture bactérienne négative. Il y avait un écart important de la numération des TC et des WBC

entre les deux techniques, avec un biais qui se situaient hors des intervalles de confiance à 95%. Cela peut s'expliquer par la surestimation de ces numérations par la technique manuelle dans les liquides très cellulaires. Cela n'a pas eu d'impact sur l'interprétation du bilan. Au final le bilan d'hydrothorax a été posé et le patient s'est cliniquement amélioré après traitement par diurétique de l'anse.

Le patient 17 présentait un liquide trouble et transsudatif, avec une numération des RBC compatible avec un exsudat ($> 10000.10^6/L$) et une numération des TC associée à une formule leucocytaire non spécifiques.

Le patient 18 présentait une pancréatite aiguë et avait un liquide trouble et exsudatif, avec une formule à majorité de PNN et une numération des TC $< 1000.10^6/L$. Les lipases pleurales étaient augmentées ce qui est cohérent avec le diagnostic de pancréatite. Les examens microbiologiques et immunohistochimiques étaient négatifs.

Le patient 19 présentait une pancréatite chronique et avait un liquide hémorragique, transsudatif, avec une formule leucocytaire à majorité de MON non spécifique. L'amylase et les lipases étaient dans les normes.

Le patient 20 était greffé hépatique et avait un liquide trouble, exsudatif, avec une formule à prédominance de LY. L'immunohistochimie et les examens microbiologiques étaient négatifs.

Au total, les résultats de l'analyse cytologique des liquides pleuraux étaient non spécifiques et peu informatifs chez ces patients.

5.1.4. Autres contextes

Le patient 21 a été prélevé dans un contexte de suspicion de maladie de Still, POEMS ou lymphome et présentait des épanchements pleuraux bilatéraux, altération de l'état général

et prurit. Le liquide était jaune et exsudatif, et avait une formule leucocytaire à prédominance de PNN, ce qui est cohérent avec une cause inflammatoire. Il existe une discordance entre les deux techniques sur le paramètre des MN (31% en manuel contre 73% en automatisé), à l'origine d'un biais qui se situe hors de l'intervalle de confiance à 95%. Après contrôle de la lame en microscopie optique, la formule montrait une majorité de PNN, soit un excès par rapport au décompte de l'automate. Cette discordance était probablement due à une répartition inhomogène des cellules sur la lame de cyto centrifugation associée à l'aspect altéré de nombreuses cellules (cellules fragiles ne supportant pas la cyto centrifugation). L'examen cytologique en AP confirmait un liquide inflammatoire assez riche en plasmocytes. Le diagnostic de maladie de Still de l'adulte a été retenu à l'issue du bilan. Il s'agit d'une pathologie rare mais connue pour être à l'origine d'épanchements pleuraux (52).

Le patient 22 est un nouveau-né présentant une anoxo-ischémie néonatale. Il avait un liquide trouble, transsudatif, avec une numération de TC élevée ($1800 \cdot 10^6/L$) et une prédominance de PNN, ce qui est en faveur d'une infection. Au final, les examens bactériologiques étaient négatifs.

Le patient 23 est un prématuré de 25 SA avec une hypoplasie pulmonaire et une maladie des membranes hyalines. Le liquide était trouble mais très peu cellulaire ($TC 9.5 \cdot 10^6/L$), et présentait une contamination par de la moelle osseuse (présence de précurseurs érythroïdes et myéloïdes). Cette contamination est classique chez les enfants, par contact de l'aiguille de prélèvement avec un os, siège de l'hématopoïèse, et pose problème pour l'interprétation de la cellularité du liquide.

Le patient 24 est un fœtus présentant une anasarque fœto-placentaire. Le liquide était trouble et transsudatif, la numération des TC à $1170.10^6/L$ et la formule leucocytaire avec plus de 80% de LY signaient un chylothorax, classique dans ce contexte.

5.2. Liquide d'ascite

La majorité des liquides analysés en routine provenaient des services d'hépatogastroentérologie (26 liquides), de réanimation (7 liquides) et d'oncologie (3 liquides). Les 4 autres liquides provenaient de pneumologie, de soins continus, d'ophtalmologie et d'obstétrique pour un liquide fœtal.

L'immense majorité des liquides d'ascites que nous recevons sont prélevés chez des patients atteints de cirrhose voir de CHC, parfois d'autres types de néoplasies. Pour deux patients atteints d'ascite réfractaire, nous avons pu analyser plusieurs prélèvements au fil des mois ce qui nous a permis d'observer les variations de la numération au fil du temps, notamment en présence d'infection.

5.2.1. Contexte de cirrhose et de ses complications

La majorité des liquides de patients cirrhotiques (70%) avaient une protéinémie inférieure à 15 g/L (facteur de risque d'ISLA), mais seuls trois patients avaient une numération en faveur d'une infection du liquide d'ascite (avec mise en place d'un traitement antibiotique suite aux résultats).

Le patient 25 présentait une ascite réfractaire. Le premier liquide que nous avons analysé pour ce patient (liquide 25(a)) avait une numération de PNN supérieure à $250.10^6/L$, posant le diagnostic d'ISLA ou de PBS. Cela a été confirmé par la culture qui était positive avec

identification d'un *E.coli*. Le contrôle réalisé à 48h de traitement (liquide 25(b)) a montré une chute de plus de moitié de la valeur des PNN, ce qui confirme le diagnostic d'ISLA.

Le patient 26 présentait un résultat cytologique en faveur d'une infection du liquide d'ascite (PNN > 250.10⁶/L), avec une culture négative (liquide 26 (a)). La présence d'une bactérie, *Enterococcus faecium*, a été mise en évidence dans le liquide 26 (b) prélevé sept jours plus tard. La numération du liquide était en dessous du seuil de PNN de 250.10⁶/L. Les ascicultures des liquides ultérieurs (26 c,d,e,f et g) sont restées stériles malgré l'augmentation des PNN au-delà du seuil de 250.10⁶/L dans le liquide 26d.

Aucune cellule pathologique n'a pu être mise en évidence chez les patients atteints de CHC, ni par notre laboratoire ni par le laboratoire d'AP, même chez les patients pour lesquels l'imagerie était en faveur de la progression du néoplasie. Cela s'explique par une faible sensibilité (27%) de l'analyse cytologique du liquide d'ascite chez les patients atteints de CHC.

Pour les patients 26 (liquide e) et 33, il y avait un écart important de la numération des TC (et des WBC pour le patient 33) entre les deux techniques. Cela peut s'expliquer par la surestimation de ces numérations par la technique manuelle dans les liquides de cellularité importante. Cet écart n'a pas eu d'impact sur les résultats patients, car l'interprétation reste la même avec les valeurs des deux techniques (PNN < 250.10⁶/L).

Il existait également des écarts importants entre les deux techniques pour la mesure des MN (patients 25 (b), 38, 40), des LY (patient 27), des MON (patient 39), et des HF (patient 28). Cela peut s'expliquer par une classification imprécise des cellules par l'automate (monomacrophages classés en HF plutôt que MON, LY activés classés en HF plutôt que LY...).

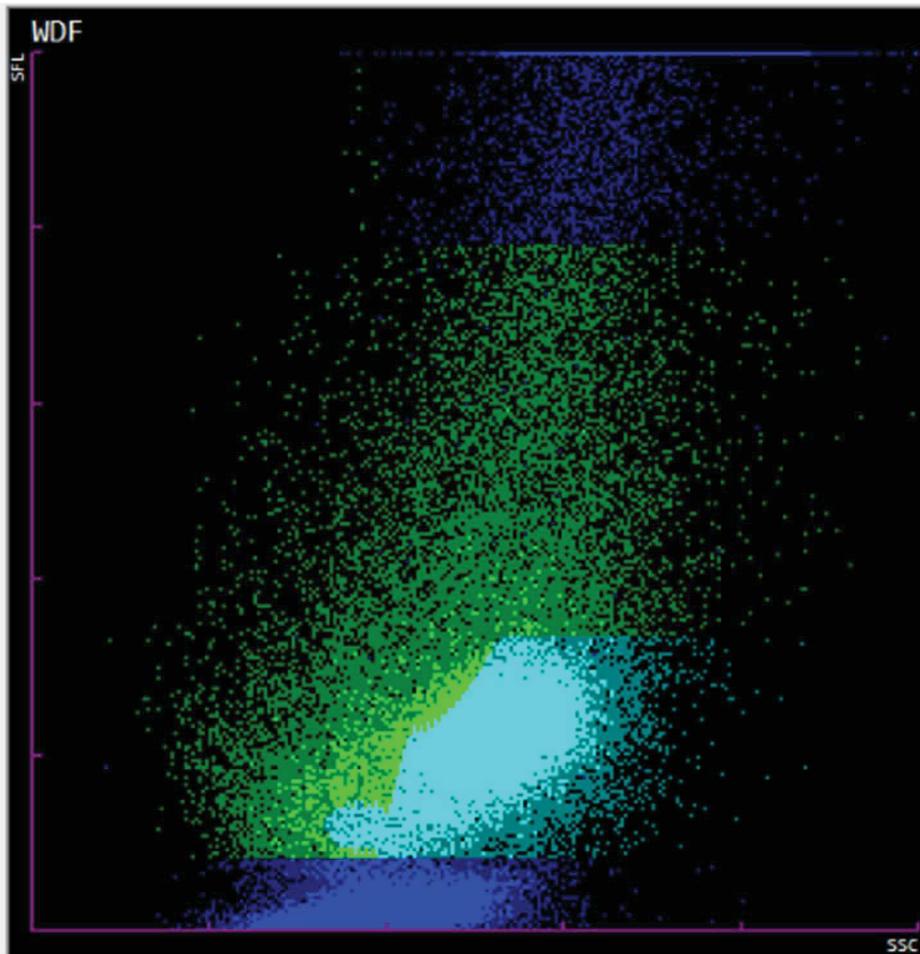
Le patient 38 présentait un écart de mesure des PNN important entre les deux techniques, potentiellement lié à une mauvaise classification des cellules sur l'automate, à la destruction de cellules fragiles par la centrifugation du liquide en technique manuelle, ou à la répartition inhomogène des cellules sur la lame de cytologie.

5.2.2. Contexte néoplasique (non-CHC)

Nous avons étudié quatre liquides en contexte de néoplasies non CHC et nous n'avons pas mis en évidence la présence de cellules pathologiques. Les numération-formule de ces liquides étaient non spécifiques.

La patiente 45 avait une suspicion de néoplasie gynécologique. Le liquide prélevé était brun et présentait de très nombreuses cellules lysées qui interféraient avec la numération automatisée des RBC et des TC (RBC : figure 13 ; TC et WBC : figure 31, nuage cellulaire diffus sans population cellulaire définie), et qui a rendu la numération manuelle très délicate. La lecture de la lame de cytologie était également complexe avec une immense majorité de cellules lysées : nous n'avons pas vu de cellules pathologiques (potentiellement lysées) et avons rendu une formule sous réserve de la mauvaise conservation des cellules. Le laboratoire d'AP a conclu à la présence de cellules pathologiques et confirmé l'origine gynécologique du cancer (probablement ovarien).

Figure 31 : Graphique automate TC/WBC de la patiente 45



Le patient 48 présentait un écart de mesure des HF important entre les deux techniques, potentiellement lié à une mauvaise classification des cellules sur automate (nombre important de MON en technique manuelle, probablement classés en HF par l'automate).

5.2.3. Autres contextes

Le patient 49 présentait une anasarque foëto-placentaire sur infection à parvovirus B19. Le liquide montrait une numération de TC supérieure à $3255 \cdot 10^6/L$ avec plus de 90% de LY, caractérisant un épanchement chyleux. Il y avait un écart important de la numération des TC et des WBC entre les deux techniques. Cela peut s'expliquer par la surestimation de ces numérations par la technique manuelle dans les liquides de cellularité importante. Cela n'a

pas eu d'impact sur l'interprétation du résultat chez ce patient (TC > 300.10⁶/L dans les deux cas).

Le patient 50 était victime d'accident de la voie publique, et le liquide présentait une numération des RBC élevée (> 10 000.10⁶/L), ce qui cohérent avec une origine traumatique de l'épanchement.

Le patient 51 était greffé de cellules souches hématopoïétiques et présentait une maladie veino-occlusive. Le liquide montrait une numération élevée des RBC.

6. DISCUSSION

La démarche diagnostique des épanchements liquidiens, et notamment des épanchements pleuraux et d'ascite, s'appuie sur des faisceaux d'arguments fournis par les analyses biologiques (hématologie, biochimie, microbiologie, anatomopathologie) ainsi que par le contexte clinique et l'imagerie du patient. La numération et la formule leucocytaire des liquides tiennent une place de choix dans cette démarche. Leur potentiel informatif est important, notamment lors de la détection de cellules anormales, comme élément d'orientation vers des pathologies spécifiques. La rapidité d'analyse de l'échantillon est indispensable car certaines pathologies nécessitent un traitement en urgence (infections, hémothorax...). De plus, l'analyse rapide du liquide permet de rendre un résultat le plus fidèle possible à la composition du liquide *in vivo*, et d'éviter les imprécisions de résultat liées à la dégradation des cellules (qui se produit en quelques heures). L'automatisation de la numération des RBC, TC et WBC répond à ce critère de rapidité, en apportant également la simplicité d'utilisation et une bonne précision de résultat.

Dans notre cohorte de patients, 46% des liquides pleuraux ont été prélevés dans un contexte néoplasique. Ces données sont en accord avec la littérature qui place les néoplasies parmi les causes les plus fréquentes d'épanchement pleural. Nous ignorons cependant si l'ensemble des liquides pleuraux prélevés sont adressés à notre laboratoire, et nous pouvons de ce fait surestimer la proportion d'épanchement carcinomateux aux HUS. De plus, la majorité des liquides pleuraux, adressés par les services de pneumologie, sont traités sur le site du NHC. La transmission des liquides au site de HP, pour analyse dans le cadre de notre travail, n'était pas exhaustive, et les liquides « normaux » étaient moins susceptibles d'être transmis. Au final un nombre plus faible de liquides pleuraux que de liquides d'ascite ont pu

être analysés. 82.5% des liquides d'ascite étaient prélevés chez des patients atteints de cirrhose, ce qui correspond également aux données de la littérature, avec les mêmes réserves que pour les liquides pleuraux concernant un potentiel envoi non exhaustif des liquides d'ascite à notre laboratoire.

Dans notre travail, nous avons analysé les liquides pleuraux et d'ascite uniquement. Nous avons décidé de ne pas analyser les LCR sur notre automate, bien qu'il s'agisse de la majorité des liquides adressés à notre laboratoire. En effet, le volume de liquide qui nous est adressé est faible et la limite de détection des hématies inadaptée à la bonne interprétation du résultat (limite de quantification à $2000 \cdot 10^6/L$, avec des valeurs normales d'hématies inférieures à $50 \cdot 10^6/L$ chez le nouveau-né et à $5 \cdot 10^6/L$ chez l'adulte (53)). La valeur des hématies dans les autres types de liquides a moins d'importance et occupe une place peu importante dans le diagnostic biologique d'un liquide d'épanchement. La numération des hématies du LCR est primordiale en hématologie. Lorsqu'elle est supérieure à $10 \cdot 10^6$ par litre, elle permet de suspecter la contamination du LCR par des cellules du sang périphérique, ce qui rend ininterprétable la présence de cellules leucémiques éventuelles, et empêche d'affirmer la localisation méningée secondaire de l'hémopathie (54). La technique manuelle de numération reste ainsi d'actualité dans la pratique du laboratoire pour l'analyse des LCR, et comme technique de secours en cas d'interférence invalidant les résultats de l'automate. Le constructeur Sysmex® a récemment développé un module XN-BF de haute sensibilité (hsA) permettant de baisser la limite de détection des hématies et cellules nucléées à des valeurs compatibles avec l'analyse des LCR (limite de quantification des RBC à $10 \cdot 10^6/L$, des WBC à $2 \cdot 10^6/L$) (55)(56). À ce jour, nous ignorons si le module est validé par le constructeur pour une utilisation en routine.

Comme plusieurs auteurs (38)(44)(53)(57)(58)(59), nous retrouvons une bonne corrélation des paramètres de routine (hématies, cellules nucléées, leucocytes) entre la technique automatisée et la technique manuelle, pour les liquides d'ascite et les liquides pleuraux. L'analyse de la corrélation mesure uniquement la puissance d'une association linéaire entre deux méthodes mais pas sa concordance, qui peut être très mauvaise même si les techniques sont bien corrélées. Une bonne concordance est observée lorsque les valeurs obtenues par les deux techniques ne sont pas significativement différentes (mesure du biais). Nous avons observé un biais moyen parfois important, biais négatif signant la sous-estimation des résultats par l'automate et d'autant plus marqué que la cellularité des liquides augmente. Même lorsque l'on exclue les liquides présentant de très forts biais, plusieurs liquides présentaient malgré tout des biais hors des limites des intervalles de confiance à 95%. Les causes de ces biais peuvent être expliquées par les défauts et les qualités intrinsèques des deux techniques d'analyse. La technique manuelle fait preuve d'une mauvaise précision, en particulier pour les liquides de forte cellularité : la dilution du liquide est nécessaire avant analyse, il y a un risque de remplissage imparfait de la cellule de comptage, d'une répartition inhomogène des cellules. De plus, l'utilisation d'une partie réduite de la cellule de comptage avec calcul du résultat final peuvent induire des erreurs et surestimer le résultat. L'automate pourrait être plus proche du résultat « vrai » dans ce contexte car la quantité de cellules analysées est plus importante : analyse de 88 μL de liquide contre 0.9 μL pour la technique manuelle. Il faut cependant rester prudent car la possibilité d'interférences en technique automatisée est bien présente : cela impose un examen attentif des graphiques de l'automate avant de rendre un résultat définitif. Les interférences peuvent être causées par le décompte erroné d'éléments non cellulaires en cellules, la classification erronée des cellules lorsqu'elles présentent des caractéristiques pathologiques ou lorsqu'elles sont altérées.

Nous avons spécifiquement exploré la concordance de l'analyse des WBC en technique automatisée avec la technique manuelle afin d'évaluer l'opportunité de rendre ce résultat au prescripteur, ce qui n'est pas le cas actuellement. Le calcul de la valeur absolue des PNN (rendue en pourcentage) sur la base de la valeur des cellules nucléées peut entraîner une surestimation du résultat en cas de présence de nombreuses cellules mésothéliales ou pathologiques. En pratique cette imprécision dans nos résultats ne semble pas avoir d'impact clinique : sur les 66 liquides analysés, seul un liquide pleural a présenté une variation de numération autour d'un seuil diagnostique : 257.10^6 PNN/L sur la base de la numération des cellules nucléées contre 228.10^6 PNN/L sur la base de la numération des WBC. Le seuil de 250.10^6 PNN/L étant retenu pour le diagnostic d'infection en contexte de cirrhose, cette variation pourrait poser problème, ce qui n'était pas le cas ici car le patient présentait un tableau de maladie auto-inflammatoire (ce qui confirme l'importance de confronter clinique et biologie pour le diagnostic d'un patient). Les deux techniques sont bien corrélées et le biais reste acceptable dans les liquides d'ascite mais est relativement élevé dans les liquides pleuraux (ce qui n'aurait pas eu d'impact clinique dans notre cohorte). Il serait utile d'étudier les leucocytes sur un plus grand nombre de liquides pleuraux pour s'affranchir d'une potentielle variation aléatoire présente dans notre cohorte.

La formule leucocytaire automatisée et fiable des liquides biologiques reste aujourd'hui un objectif à atteindre malgré les progrès déjà accomplis. Les paramètres validés par le constructeur que sont les PMN (PNN+PNE) et les MN (LY+MON+macrophages) permettent d'avoir un aperçu du type de cellules présentes dans le liquide. Ces paramètres sont bien corrélés avec la technique manuelle et présentent un biais relativement faible. La concordance est meilleure pour les faibles proportions de PMN et à l'inverse pour les fortes

proportions de MN, ce à quoi nous n'avons pas d'explication. Ces paramètres ne sont cependant pas suffisants pour poser un diagnostic. En effet, une formule à majorité de PMN peut signifier une majorité de PNN (infection) ou de PNE (allergie, néoplasie). La mesure des PMN garde toutefois son utilité lorsqu'elle est interprétée avec le reste de la biologie et avec la clinique du patient : dans le contexte de l'urgence (par exemple suspicion d'ISLA), la numération des leucocytes associée au rendu de la valeur des PMN permettrait une première approche de la composition du liquide. La formule leucocytaire serait alors affinée dans un second temps à l'issue du traitement de l'échantillon par technique manuelle, dont le délai de rendu de résultat est plus important que pour la technique automatisée. La mesure des MN présente moins d'intérêt, car elle ne permet pas d'extrapoler la prédominance ou non de lymphocytes dans un liquide (paramètre d'intérêt diagnostic), étant donné que la proportion de monomacrophages et de lymphocytes est très variable d'un liquide à l'autre.

Comme pour plusieurs auteurs (38)(58)(59)(60), nous obtenons des performances satisfaisantes pour l'analyse automatisée des PNN (bonne corrélation et biais faible) dans les liquides d'ascite et pleuraux. Ce paramètre pourrait servir d'aide à l'interprétation biologique du résultat afin de repérer les liquides suspects d'infection, ce qui permettrait de les traiter en priorité en technique manuelle pour rendre une formule leucocytaire rapidement.

Le résultat automatisé des PNE semble également fiable dans les liquides pleuraux mais montre une mauvaise corrélation avec la technique manuelle dans les liquides d'ascite, sous réserve d'un faible nombre d'échantillons utilisés pour l'analyse statistique et de pourcentages faibles de PNE. Il est à noter que Favresse *et al.* (59) trouvaient une mauvaise corrélation de ce paramètre sur 92 liquides (ascites et pleuraux). Ce résultat est cohérent avec les mauvaises performances des hématimètres XN de Sysmex pour la détection des PNE dans

le sang, que nous observons dans notre laboratoire. La valeur de PNE obtenue en microscopie optique semble être toujours plus importante que celle obtenue par l'automate, ce qui serait cohérent avec une mauvaise détection de ces cellules par l'automate.

Le résultat automatisé des monocytes pose toujours problème du fait de la continuité de morphologie qui existe entre monocytes et macrophages, qui sont inégalement comptés en cellules mononucléées ou cellules de haute fluorescence par l'automate (division arbitraire à partir d'un certain seuil de fluorescence). La problématique se pose également pour les lymphocytes, comme nous en avons eu l'exemple en présence de lymphocytes lymphoplasmocytaires présentant une fluorescence plus élevée que la population lymphocytaire normale et partiellement comptés en cellules de haute fluorescence. Comme Huang *et al.* (61), nous trouvons une mauvaise corrélation de la mesure des LY et des MON entre les deux techniques. La microscopie montre des valeurs plus élevées de monocytes et des valeurs plus faibles de lymphocytes que l'automate. Cela pourrait être causé par un comptage par l'automate d'une partie des monocytes (et macrophages) en cellules de haute fluorescence. Cela pourrait également être causé par la tendance des monomacrophages à se réunir en amas lorsqu'ils sont nombreux : l'automate compterait alors un amas comme une cellule unique, avec sous-estimation du résultat des MON. Cette mauvaise corrélation des MON et LY entre les deux techniques pourrait, enfin, être expliquée par une répartition inhomogène des cellules sur la lame de cyto centrifugation. Au final, tant que la différenciation leucocytaire par l'automate ne sera pas affinée, il semble difficile d'exploiter ces paramètres.

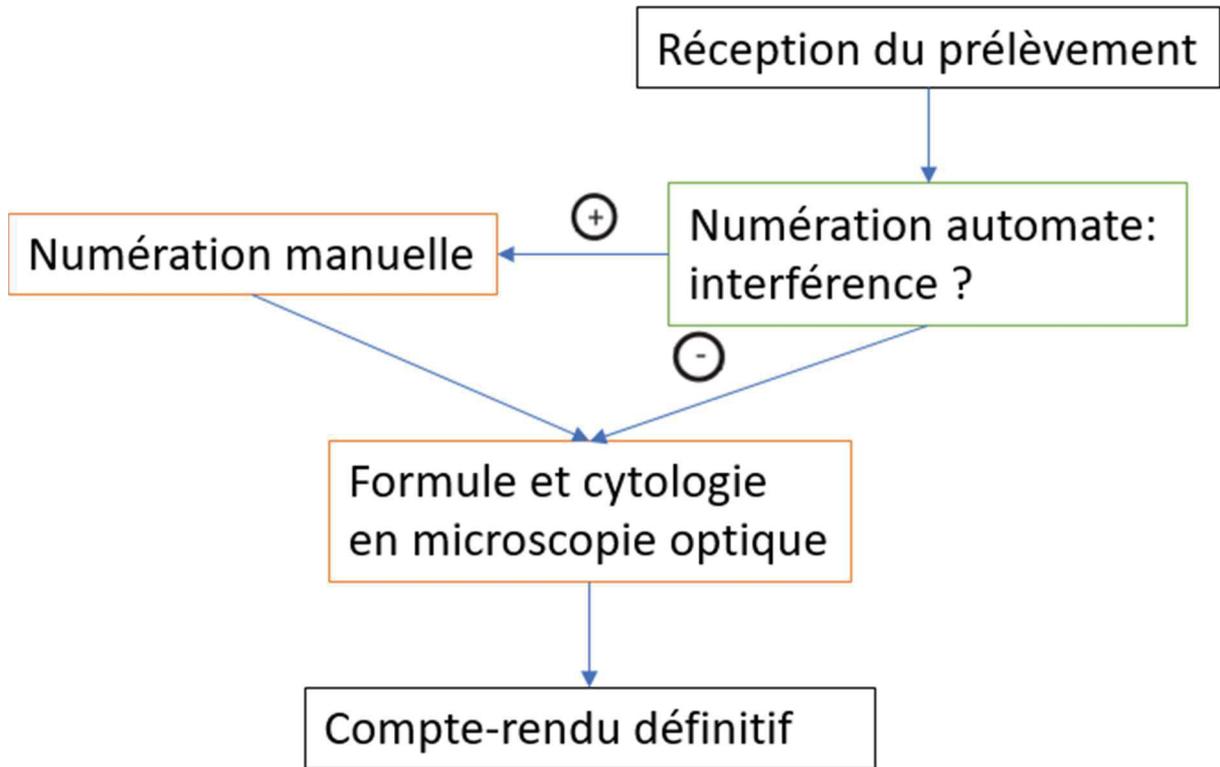
À l'image de Roccaforte *et al.* (38), nous avons trouvé une mauvaise corrélation, entre les deux techniques, de la mesure des cellules de haute fluorescence dans les liquides d'ascite. Au contraire, nous trouvons une bonne corrélation de ce paramètre dans les liquides pleuraux,

avec un biais faible. Labaere *et al.* (62) ont montré l'intérêt d'un seuil d'HF-BF à 17.10^6 cellules/L pour suspecter la présence de cellules néoplasiques dans un liquide, avec une sensibilité de 88% mais une faible spécificité de l'ordre de 61%. Ce seuil a été confirmé par Wong-Arteta *et al.* dans les liquides d'ascite (63) et les liquides pleuraux (64). D'autres auteurs tentent de développer des règles d'expertise afin d'augmenter la spécificité de détection des cellules néoplasiques ou de permettre la décision de réaliser ou non un examen cytologique microscopique sur la base des résultats de l'automate (53)(58)(65). Buoro *et al.* (58) ont proposé des règles d'expertise permettant de déterminer de la nécessité d'un examen du liquide en microscopie optique. Les règles proposées étaient la présence d'une alarme morphologique sur l'automate, un seuil de HF-BF à 68.10^6 cellules par litre (61% de sensibilité et 100% de spécificité pour la présence de cellules pathologiques dans le liquide) ou plus de 5% de PNE. Xu *et al.* (66) proposaient un seuil de cellules de haute fluorescence à 4.4/100 WBC (111 ascites et 95 liquides pleuraux), Cho *et al.* (67) un seuil à 6.9/100 WBC (176 ascites, 131 liquides pleuraux, 77 liquides céphalo-rachidiens, 21 liquides « autres ») et Rastogi *et al.* (68) un seuil à 3.95/100 WBC (797 ascites, 532 liquides pleuraux et 656 liquides céphalo-rachidiens). Dans notre série, les patients 5 (liquides a et b) et 7, dont les cellules pathologiques ont été mises en évidence au laboratoire d'hématologie, avaient une numération des cellules de haute fluorescence supérieure à ces seuils proposés dans la littérature. Le patient 3, dont les cellules pathologiques ont également été détectées dans notre laboratoire, avait une numération qui dépassait tous les seuils à l'exception du plus élevé, à 68.10^6 de cellules de haute fluorescence par litre. Le patient 1, dont les cellules métastatiques n'ont été mises en évidence qu'en anatomopathologie, avait une numération des cellules de haute fluorescence inférieure à tous ces seuils de la littérature.

Dans notre série, les liquides envahis de cellules pathologiques ne présentaient pas de très grandes variations entre la numération des cellules nucléées et des leucocytes, étant donné les valeurs relativement faibles des cellules de haute fluorescence. En dehors de notre série de liquides, nous avons analysé quelques échantillons présentant un nombre important de cellules métastatiques. Pour l'un de ces échantillons, la numération des cellules nucléées était de $1011.10^6/L$, celle des leucocytes de $246.10^6/L$, et celle des cellules de haute fluorescence de 311/100 WBC, avec une majorité de cellules métastatiques en cytologie. Dans ce cas la grande différence de numération entre les cellules nucléées et les leucocytes a permis de suspecter l'envahissement néoplasique.

Notre étude a permis de mettre en évidence les bonnes performances de l'automate pour l'analyse des paramètres de routine dans les liquides pleuraux et les ascites, bien que le faible nombre de liquides analysés reste une limite majeure de notre travail. Pour les liquides pleuraux et d'ascite, la numération des hématies, cellules nucléées et leucocytes pourra être réalisée en technique automatisée, en association avec une formule leucocytaire réalisée en technique manuelle (Figure 32). Seule une étude sur un nombre élevé d'échantillons pourrait permettre de définir des règles d'expertise pour notre laboratoire, basées sur les caractéristiques des liquides que nous analysons, afin d'optimiser l'utilisation des paramètres de recherche (cellules de haute fluorescence et formule leucocytaire) en routine.

Figure 32 : Prise en charge des liquides au laboratoire d'hématologie des HUS



CONCLUSION

L'analyse cellulaire des liquides d'épanchement est un élément diagnostique important pour de nombreuses pathologies. Traditionnellement, la microscopie optique est considérée comme le « gold standard » pour quantifier et classer les différents composants cellulaires des liquides. Cette méthode manuelle montre cependant ses limites, c'est pourquoi nous avons cherché à améliorer la prise en charge des liquides biologiques au laboratoire d'Hématologie des HUS en mettant en place une technique automatisée par le module XN-BF de l'automate XN (Sysmex®, Kobe, Japon).

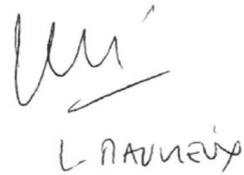
Nous avons montré sur 40 liquides d'ascite et 26 liquides pleuraux une bonne corrélation et une bonne concordance entre les techniques manuelle et automatisée pour la numération des cellules nucléées, des leucocytes et des hématies. Cependant, pour certains paramètres de la formule leucocytaire, qui ne sont actuellement pas validés par le constructeur, nous avons constaté une discordance entre les deux techniques. Nous avons donc choisi d'intégrer la numération cellulaire automatisée des liquides pleuraux et des ascites au sein du laboratoire d'Hématologie, tout en gardant la précision de l'étude morphologique des cellules en microscopie optique, dans notre stratégie globale de prise en charge des liquides d'épanchement.

VU

Strasbourg, le.....29/10/2020.....

Le président du Jury de Thèse

Professeur Laurent MAUVIEUX



L. MAUVIEUX

VU et approuvé

Strasbourg, le.....03 DEC. 2020.....

Administrateur provisoire de la Faculté de
Médecine, Maïeutique et Sciences de la Santé

Professeur Jean SIBILIA



Annexes

ANNEXE 1 : Synthèse des analyses statistiques

MO = microscope optique (technique manuelle), BF = Body Fluid (technique automatisée)

Pleural							
Paramètre	Test de Student			Coefficient de Pearson r	Bland-Altman		Nombre de valeurs
	Moyenne	Ecart-type	p-value		Biais moyen	Intervalle de confiance à 95%	
RBC MO	11527.10 ⁶ cellules/L	14273	0.2182	0.973	-1827.10 ⁶ cellules/L	-10380 à 6726	10
RBC-BF	9700.10 ⁶ cellules/L	11026					
TC MO	857.10 ⁶ cellules/L	1556	0.1709	0.994	-230.10 ⁶ cellules/L	-1439 à 979	15
TC-BF	627.10 ⁶ cellules/L	953					
WBC MO	864.10 ⁶ cellules/L	1462	0.1051	0.998	-228.10 ⁶ cellules/L	-1188 à 732	14
WBC-BF	636.10 ⁶ cellules/L	979					
PMN MO	23%	23	0.4842	0.829	-1.9 %	-28 à 24	24
PMN-BF	21%	19					
MN MO	77%	23	0.4756	0.828	1.9 %	-24 à 28	24
MN-BF	79%	19					
PNN MO	19%	19	0.4148	0.882	-1.9 %	-19 à 16	16
PNN-BF	18%	16					
PNE MO	5%	9	0.0662	0.962	-2.7 %	-11 à 5	10
PNE-BF	3%	6					
LY MO	53%	27	0.0031	0.731	17%	-20 à 53	16
LY-BF	69%	21					
MON MO	24%	19	0.0075	0.453	-13%	-45 à 20	16
MON-BF	11%	9					
HF MO	9 cellules/100 WBC	18	0.6841	0.959	0.9 cellules/100 WBC	-12 à 14	9
HF-BF	10 cellules/100 WBC	14					

Ascite							
Paramètre	Test de Student			Coefficient de Pearson r	Bland-Altman		Nombre de valeurs
	Moyenne	Ecart-type	p-value		Biais moyen	Intervalle de confiance à 95%	
RBC MO	2101.10 ⁶ cellules/L	1449	0.1202	0.935	-401.10 ⁶ cellules/L	-1848 à 1046	10
RBC-BF	1700.10 ⁶ cellules/L	823					
TC MO	262.10 ⁶ cellules/L	628	0.2263	0.996	-46.10 ⁶ cellules/L	-413 à 320	25
TC-BF	216.10 ⁶ cellules/L	447					
WBC MO	230.10 ⁶ cellules/L	491	0.2	0.996	-15.10 ⁶ cellules/L	-126 à 96	24
WBC-BF	214.10 ⁶ cellules/L	453					
PMN MO	23%	25	0.3599	0.894	1.7 %	-21 à 24	39
PMN-BF	25%	25					
MN MO	77%	25	0.3599	0.894	-1.7 %	-24 à 21	39
MN-BF	75%	25					
PNN MO	18%	20	0.5347	0.943	0.9 %	-13 à 15	25
PNN-BF	19%	16					
PNE MO	0.7 %	1	0.8336	0.486	-0.1 %	-3.5 à 3.2	7
PNE-BF	0.6 %	0.9					
LY MO	43%	24	7.778.10 ⁻⁰⁷	0.775	20%	-10 à 15	25
LY-BF	63%	20					
MON MO	38%	23	4.141.10 ⁻⁰⁶	0.65	-21%	-56 à 18	25
MON-BF	17%	11					
HF MO	7 cellules/100 WBC	7	0.3293	0.145	2 cellules/100 WBC	-17 à 21	22
HF-BF	9 cellules/100 WBC	8					

ANNEXE 2 : Données de la comparaison de méthode

Liquides pleuraux. Les cases colorées en rose correspondent aux données utilisées dans l'analyse statistique. (MO = microscopie optique, BF = automate, RBC = hématies, TC = cellules nucléées, WBC = leucocytes, HF = cellules de haute fluorescence, PMN = cellules polynucléées, MN = cellules mononucléées, PNN = polynucléaires neutrophiles, PNE = polynucléaires éosinophiles, LY = lymphocytes, MON = monocytes)

N° patient	<u>RBC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>RBC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>TC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>TC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>WBC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>WBC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)
1	166,5	<1000	622	530	850	516
3	1935	2000	492,5	340	343	318
4	167	<1000	467,5	407	557	392
5 (a)	3690	4000	545	967	/	859
5 (b)	4680	6000	350	413	/	311
6	8550	8000	4410	4384	/	4259
7	44595	34000	580,5	450	360	319
8	28710	24000	391,5	488	370	484
9 (coag)	14490	10000	590	431	585	418
10	255	<1000	15	11	20	9
11	98800	38000	220	431	/	424
12	8662,5	13000	712	785	1125	778
13	12870	6000	233	243	/	219
14	2000	1000	1660	1124	/	1107
15	500	<1000	110	55	/	52
16	2290	3000	6380,5	3949	5760	3918
17	15350	8000	520	215	/	188
18	186,5	<1000	321,5	278	193	262
19	7790	8000	214,5	61	28	60
20	626,5	1000	700,5	546	633	499
21	171	<1000	544,5	385	/	341
22	16200	1000	1800	440	/	430
23	5895	4000	9,5	26	9	25
24	1895	2000	1170	906	1260	902

N° patient	Cellules de haute fluorescence (cellules/100 WBC)	HF-BF (cellules/100 WBC)	PMN MO (%)	PMN BF (%)	MN MO (%)	MN BF (%)
1	0	2,7	3	4,9	97	95,1
3	5	6,9	5	7,3	95	92,7
4	QQ	3,8	0	3,6	100	96,4
5 (a)	NB	12,6	2	19	98	81
5 (b)	NB	32,8	2	20,3	99	79,7
6	NB	2,9	32	24,3	68	75,7
7	56	41,1	6	10,9	94	89,1
8	0	0,8	27	7,6	73	92,4
9 (coag)	NR	3,1	5	6,5	95	93,5
10	13	22,2	24	33,3	76	66,7
11	QQ	1,1	4	7,1	96	92,9
12	RA	0,9	39	22,5	61	77,5
13	PRES	11	16	21,9	82	78,1
14	NR	1,5	0	1,5	100	98,5
15	QQ	5,8	27	23	73	77
16	RA	0,8	38	18,5	62	81,5
17	PRES	14,3	18	20,2	82	79,8
18	NB	6,1	63	52,7	37	47,3
19	0	1,7	38	48,3	62	51,7
20	7	9,4	1	3,4	99	96,6
21	NR	12,9	69	27	31	73
22	NR	2,3	79	83,7	21	16,3
23	0	4	46	36	54	64
24	0	0,4	8	2,8	92	97,2

N° patient	PNN MO (%)	PNN BF (%)	PNE MO (%)	PNE BF (%)	LY MO (%)	LY BF (%)	MON MO (%)	MON BF (%)
1	3	4,7	0	0,2	53	76,9	44	18,2
3	4	7,3	1	0	35	81,1	60	11,6
4	0	3,6	0	0	77	84,7	23	11,7
5 (a)	2	/	0	/	4	/	94	/
5 (b)	1	/	1	/	5	/	94	/
6	4	6	28	18,3	62	73,8	6	1,9
7	6	10,9	0	0	71	62,1	23	27
8	27	7,6	0	0	30	87	43	5,4
9 (coag)	5	6,3	0	0,2	88	89	7	4,5
10	24	33,3	0	0	72	55,6	4	11,1
11	3	/	1	/	84	/	12	/
12	24	17,1	15	5,4	44	71,2	17	6,3
13	16	/	0	/	69	/	15	/
14	0	/	0	/	83	/	17	/
15	27	23	0	0	64	71,2	9	5,8
16	38	18,2	0	0,3	57	78,1	5	3,4
17	18	/	0	/	29	/	53	/
18	63	52,3	0	0,4	4	21	33	26,3
19	38	48,3	0	0	11	41,7	51	10
20	1	3,2	0	0,2	79	86,6	20	10
21	67	/	2	/	8	/	23	/
22	78	/	1	/	5	/	16	/
23	42	36	4	0	12	36	40	28
24	4	2,4	4	0,4	87	94,5	5	2,7

Liquides d'ascite. Les cases colorées en rose correspondent aux données utilisées dans l'analyse statistique. (MO = microscopie optique, BF = automate, RBC = hématies, TC = cellules nucléées, WBC = leucocytes, HF = cellules de haute fluorescence, PMN = cellules polynucléées, MN = cellules mononucléées, PNN = polynucléaires neutrophiles, PNE = polynucléaires éosinophiles, LY = lymphocytes, MON = monocytes)

N° patient	<u>RBC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>RBC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>TC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>TC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>WBC MO</u> (10 ⁶ cellules/L)	<u>WBC-BF</u> (10 ⁶ cellules/L)
25 (a)	10	<1000	1840	590	/	580
25 (b)	2900	4000	120	112	/	112
25 (c)	120	<1000	33	31	/	30
25 (d)	516	<1000	31	41	/	40
26 (a)	6100	4000	700	821	/	812
26 (b)	910	<1000	220	78	/	75
26 (c)	360	<1000	590	184	/	181
26 (d)	12050	4000	8270	596	/	596
26 (e)	745	<1000	262	151	128	137
26 (f)	1482,5	1000	184	189	223	174
26 (g)	1448	1000	179	181	230	171
27	106,5	<1000	84	87	79	67
28	2260	2000	112,5	137	160	130
29	4890	3000	239	181	123	165
30	430	<1000	225	238	200	227
31	78,5	<1000	52,5	34	51	30
32	1835	2000	99	108	72	98
33	4063	3000	152	236	127	230
34	413,5	1000	141	145	167	133
35	147,5	<1000	113,5	86	120	83
36	229	<1000	151,5	86	163	82
37	177,5	<1000	86	49	67	47
38	2745	2000	360	380	370	379
39	1300	1000	80	81	/	77
40	7700	<1000	40	4	/	4
41 (a)	265	<1000	63	101	/	97
41 (b)	150	<1000	170	98	/	96
41 (c)	146,5	<1000	104,5	69	116	67
41 (d)	1368	1000	79,5	109	81	105
41 (e)	251	<1000	122	89	160	86
42	83,5	<1000	64	39	43	35
43	20,5	<1000	110,5	101	73	92
44	503	1000	25,5	35	/	34
46	50	<1000	172,5	127	113	119
47	81,5	<1000	111	93	72	91
48	65,5	<1000	70,5	114	64	85
49	134	<1000	3255	2330	2510	2313
50	69000	47000	100	361	/	360
51	13540	6000	100	137	/	122

N° patient	Cellules de haute fluorescence (cellules/100 WBC)	HF-BF (cellules/100 WBC)	PMN MO (%)	PMN BF (%)	MN MO (%)	MN BF (%)
25 (a)	RA	1,7	77	91,4	23	8,6
25 (b)	QQ	0	67	38,4	33	61,6
25 (c)	NR	3,2	2,5	3,3	97,5	96,7
25 (d)	QQ	2,5	14	12,5	86	87,5
26 (a)	QQ	1,1	80	80	20	20
26 (b)	RA	4	8	9,3	92	90,7
26 (c)	PRES	1,7	6	12,8	94	87,2
26 (d)	PRES	0	78	66,8	22	33,2
26 (e)	14	10,2	6	8,1	94	91,9
26 (f)	8	8,6	7	7,5	93	92,5
26 (g)	2	5,8	6	5,3	94	94,7
27	16	29,9	8	13,5	92	86,5
28	26	5,4	8	14,6	92	85,4
29	17	9,7	42	34	58	66
30	8	4,8	10	9,7	90	90,3
31	5	13,3	17	26,6	83	73,4
32	4	10,2	3	10,2	97	89,8
33	3	2,6	51	50,5	49	49,5
34	6	9	16	15,8	84	84,2
35	1	3,6	36	36,2	64	63,8
36	1	4,9	4	4,9	96	95,1
37	6	4,3	28	27,6	72	72,4
38	RA	0,3	78	54,9	22	45,1
39	RA	5,2	3	11,7	97	88,3
40	QQ	0	25	75	75	25
41 (a)	QQ	4,1	9	10,4	91	89,6
41 (b)	RA	2,1	9	6,2	91	93,8
41 (c)	4	3	4	10,4	96	89,6
41 (d)	3	3,8	4	10,5	96	89,5
41 (e)	3	3,5	12	7	88	93
42	6	11,4	2	14,3	98	85,7
43	11	9,8	14	14,2	86	85,8
44	QQ	2,9	2	0	98	100
46	1	6,7	2	2,5	98	97,5
47	6	2,2	51	42,8	49	57,2
48	0	34,1	35	44,7	65	55,3
49	0	0,7	4	0,4	96	99,6
50	NR	0,3	18	19,2	82	80,8
51	++	10,9	59	68,9	41	31,1

N° patient	<u>PNN MO</u> (%)	<u>PNN BF</u> (%)	<u>PNE MO</u> (%)	<u>PNE BF</u> (%)	<u>LY MO</u> (%)	<u>LY BF</u> (%)	<u>MON MO</u> (%)	<u>MON BF</u> (%)
25 (a)	77	/	0	/	7	/	16	/
25 (b)	67	/	0	/	16	/	17	/
25 (c)	2,5	/	0	/	90	/	7,5	/
25 (d)	14	/	0	/	74	/	12	/
26 (a)	80	/	0	/	11	/	9	/
26 (b)	8	/	0	/	73	/	19	/
26 (c)	6	/	0	/	38	/	56	/
26 (d)	78	/	0	/	2	/	20	/
26 (e)	6	8,1	0	0	31	73,7	63	18,2
26 (f)	6	7,5	1	0	40	77	53	15,5
26 (g)	6	5,3	0	0	45	78,9	49	15,8
27	8	13,5	0	0	65	50,7	27	35,8
28	8	14,6	0	0	59	78,5	33	6,9
29	42	34	0	0	26	33,9	32	32,1
30	10	9,7	0	0	60	78,4	30	11,9
31	17	26,6	0	0	25	36,7	58	36,7
32	3	9,2	0	1	38	75,5	59	14,3
33	51	50,5	0	0	15	43	34	6,5
34	16	15,8	0	0	53	73,7	31	10,5
35	33	36,2	3	0	56	53	8	10,8
36	4	4,9	0	0	90	87,8	6	7,3
37	28	27,6	0	0	43	66	29	6,4
38	78	54,6	0	0,3	19	42,5	3	2,6
39	3	11,7	0	0	11	61	86	27,3
40	24	/	1	/	66	/	9	/
41 (a)	9	/	0	/	71	/	20	/
41 (b)	9	/	0	/	67	/	24	/
41 (c)	4	10,4	0	0	73	80,6	23	9
41 (d)	4	/	0	/	66	/	30	/
41 (e)	12	7	0	0	52	77,9	36	15,1
42	2	14,3	0	0	19	54,3	79	31,4
43	14	14,2	0	0	20	47,8	66	38
44	2	/	0	/	70	/	28	/
46	2	2,5	0	0	55	83,2	43	14,3
47	51	42,8	0	0	21	33	28	24,2
48	35	42,3	0	2,4	0	24,7	65	30,6
49	3	0,4	1	0	92	98	4	1,6
50	18	18,9	0	0,3	66	73,3	16	7,5
51	56	/	3	/	4	/	37	/

ANNEXE 3 : Données clinico-biologiques des patients

Patients avec liquides pleuraux (en orange les liquides présentant des cellules pathologiques). Les résultats de numération formule correspondent à la technique manuelle, à l'exception des HF (technique automatisée).

N° patient	Indication à l'analyse du liquide	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
Contexte de néoplasie								
1	Altération de l'état général	Dyspnée, toux, altération de l'état général	Masse comprimant la bronche souche droite, épanchement pleural droit de grande abondance. Probable métastase pulmonaire	Trouble	HF-BF 2.7/100 WBC TC 622.10 ⁶ /L > 50% LY	LDH > 200 U/L	AP : Très rares amas de cellules atypiques, cytoplasme abondant avec noyau de grande taille nucléolé, TTF 1+ (clone 7G3/1), Ber-EP4+ (clone Ber-EP4), cytokeratine 7+ (clone OV-TL 12/30)	Diagnostic d'ADK pulmonaire à l'issue du bilan
2	ADK pulmonaire, ponction évacuatrice	Dyspnée	/	Hémorragique	RBC > 100 000.10 ⁶ /L TC 7894.10 ⁶ /L > 50% LY, > 10% PNE	Protéines totales > 30 g/L LDH > 200 U/L	AP : Présence de cellules adénocarcinome uses d'origine pulmonaire	Numération automate non rendue : nombreux débris
3	ADK pulmonaire, ponction diagnostique et évacuatrice	Dyspnée	Progression locale du cancer, épanchement pleural droit	Trouble	Cellules suspectes de malignité HF-BF 6.9/100 WBC TC 493.10 ⁶ /L > 50% MON	Protéines totales > 30 g/L LDH > 200 U/L	AP : Présence de cellules adénocarcinome uses	/
4	Altération de l'état général	Altération de l'état général, insuffisance respiratoire aiguë	Masse tumorale hilare droite.	Jaune	TC 468.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales = 30 g/L LDH > 200 U/L	AP : Matériel hémorragique et inflammatoire chronique actif avec cellules mésothéliales modifiées	Diagnostic de carcinome à petites cellules présumé pulmonaire à l'issue du bilan
5 (a et b)	Cholangiocarcinome	Détresse respiratoire sur épanchements pleuraux bilatéraux	/	Trouble	HF-BF 12.6/100 WBC (a) TC 545.10 ⁶ /L (a) HF-BF 32.8/100 WBC (b) TC 350.10 ⁶ /L (b) Majorité de macrophages Nombreuses métastases	Protéines totales ± 30 g/L Gradient albumine ± 12 g/L	AP : Localisation d'un adénocarcinome partiellement TTF1 +	/
6	Suspicion de mésothéliome	Épanchements pleuraux bilatéraux	/	Jaune orangé	TC 4410.10 ⁶ /L > 50% LY, > 10% PNE	Protéines totales > 30 g/L LDH > 200 U/L	AP : Aspect d'hyperplasie mésothéliale. Absence d'expression immunohistochimique de TTF 1 -	/

N° patient	Indication à l'analyse du liquide	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
7	Lymphome lymphoplasmocytaire, ponction évacuatrice	/	/	Hématique	RBC > 10 000.10 ⁶ /L HF-BF 41.1/100 WBC TC 581.10 ⁶ /L 36% cellules lymphoplasmocytaires	Protéines totales > 30 g/L	CMF : Mise en évidence d'une population B CD19+, CD20+, CD5-, monotypique kappa(faible). Localisation spécifique du lymphome connu.	/
8	Altération de l'état général	Altération de l'état général, épanchement droit	/	Orange	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 392.10 ⁶ /L Formule panachée	Protéines totales < 30 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	Probable mésothéliome pleural droit
9	Carcinome bronchique à petites cellules en rémission	/	/	Trouble et coagulé	Non rendu : prélèvement coagulé	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
10	Carcinome canalaire mammaire en rupture de suivi	Détresse respiratoire aiguë sur pneumopathie bilatérale ou lymphangite carcinomateuse	/	Jaune	TC 15.10 ⁶ /L > 50% LY	/	AP : Matériel inflammatoire avec présence d'exceptionnelles cellules modifiées de nature et de signification indéterminées	Carcinome canalaire du sein gauche multi-métastatique
11	Carcinome urinaire avec métastases hépatiques	Asthénie, perte d'appétit, dyspnée, épanchement pleural droit	Infiltration tumorale du foie droit envahissant la veine sus-hépatique droite ainsi que la branche portale droite. Épanchement pleural droit de forte abondance.	Hémorragique	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 220.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales > 30 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
Contexte infectieux								
12	Pleuro-pneumopathie	Insuffisance respiratoire aiguë	Épanchement pleural droit de grande abondance avec atelectasie passive de contact, absence d'argument en faveur d'une abcédation	Hématique trouble	TC 712.10 ⁶ /L Formule panachée > 10% PNE	Protéines totales > 30 g/L	Culture bactérienne : négative AP : Liquide pleural hémorragique et inflammatoire avec hyperplasie mésothéliale sans élément atypique	Évolution favorable sous CLAFORAN + METRONIDAZOLE

N° patient	Indication à l'analyse du liquide	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
13	Pneumopathie d'inhalation	Détresse respiratoire et choc septique sur pneumopathie d'inhalation	Multiplés foyers de pneumopathie, épanchements pleuraux bilatéraux	Trouble	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 233.10 ⁶ /L > 50% LY 3% plasmocytes	Protéines totales ± 30 g/L Gradient albumine ± 12 g/L	Culture bactérienne : négative AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	Traitement anti-infectieux en cours au moment du prélèvement
14	Récidive pleuropéricardite tuberculeuse sur sevrage brutal en corticoïdes	Insuffisance cardiaque, épanchement pleural droit	/	Jaune orangé	TC 1660.10 ⁶ /L > 50% LY réactionnels 2% plasmocytes	Protéines totales < 30 g/L LDH < 200 U/L	Culture bactérienne : négative AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
Contexte de pathologie digestive								
15	Cirrhose alcoolique avec insuffisance hépatocellulaire sévère	Trouble de la conscience, insuffisance respiratoire aiguë, épanchement pleural droit	Épanchement pleural droit de grande abondance. Épanchement pleural gauche de faible abondance.	Jaune	TC 110.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 30 g/L Gradient albumine > 12 g/L Glucose > 3.4 mmol/L	AP : Matériel mal conservé, sans cellules néoplasiques décelables	/
16	Cirrhose alcoolique	Insuffisance respiratoire	Absence d'embolie pulmonaire	Trouble avec coagulum	TC 6381.10 ⁶ /L > 50% LY réactionnels	LDH > 200 U/L	Culture bactérienne : négative AP : Matériel inflammatoire polymorphe, sans cellules carcinomateuses décelables	Hydrothorax d'évolution favorable sous diurétiques de l'anse
17	Ponction évacuatrice	Insuffisance hépatocellulaire terminale et syndrome hépatopulmonaire sévère	/	Trouble	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 520.10 ⁶ /L > 50% MON	Protéines totales < 30 g/L	AP : Matériel hématique, inflammatoire subaigu, sans cellules suspectes de malignité	/
18	Pancréatite	/	/	Trouble	TC 322.10 ⁶ /L > 50% PNN	Protéines totales < 30 g/L Lipase 148 U/L	Culture bactérienne : négative AP : Liquide pleural réactionnel sans élément atypique	/
19	Pancréatite chronique	Anorexie psychogène avec dénutrition sévère.	Épanchements pleuraux bilatéraux avec atélectasie passive de contact, de moyenne à grande abondance.	Hématique	TC 215.10 ⁶ /L > 50% MON	Protéines totales < 30 g/L Amylase 6 U/L Lipase < 5 U/L	AP : Matériel inflammatoire, sans cellules néoplasiques décelables	Epanchement causé par l'hypoalbuminémie

N° patient	Indication à l'analyse du liquide	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
20	Greffe hépatique	/	/	Trouble	TC 701.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales > 30 g/L	AP : Matériel inflammatoire chronique, riche en lymphocytes, sans cellules carcinomateuses décelables	/
Autres contextes								
21	Suspicion maladie de Still, POEMS ou lymphome	Altération de l'état général, prurit, épanchements bilatéraux	/	Jaune	TC 545.10 ⁶ /L > 50% PNN	LDH < 200 U/L	AP : Matériel inflammatoire polymorphe, assez riche en plasmocytes, sans cellules néoplasiques décelables	Diagnostic de maladie de Still de l'adulte
22	Anoxo-ischémie néonatale	Ponction évacuatrice	/	Trouble	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 1800.10 ⁶ /L > 50% PNN	Protéines totales < 30 g/L	/	/
23	Prématuré 25 SA	Hypoplasie pulmonaire, maladie des membranes hyalines, hypoxie réfractaire	/	Trouble et hémattique	TC 9.5.10 ⁶ /L Formule panachée	/	/	Présence de précurseurs de la moelle osseuse
24	Anasarque foeto-placentaire	Diabète gestationnel	/	Trouble	TC 1170.10 ⁶ /L > 80% LY	Protéines totales < 30 g/L	/	Chylothorax

Patients avec liquides d'ascite (en orange le liquide présentant des cellules pathologiques). Les résultats de numération formule correspondent à la technique manuelle, à l'exception des HF (technique automatisée).

N° patient	Maladie	Date	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
Contexte de cirrhose et ses complications									
25	Insuffisance hépatocellulaire terminale et syndrome hépatopulmonaire sévère	29.10.19 (a)	Détresse respiratoire, insuffisance rénale, hypotension	/	Jaune	TC 1840.10 ⁶ /L PNN > 250.10 ⁶ /L	Gradient albumine > 11 g/L Protéines totales ± 15 g/L	Présence de <i>E. coli</i>	Traitement par Tazocilline
		31.10.19 (b)	/	/	Jaune	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		07.11.19 D (c)	/	/	Jaune	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		07.11.19 G (d)	/	/	Jaune	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/

N° patient	Maladie	Date	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
26	Ascite réfractaire sur cirrhose OH	22.10.19 (a)	/	/	Trouble	TC 700.10 ⁶ /L PNN > 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		29.10.19 (b)	/	/	Jaune	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	<i>Enterococcus faecium</i>	/
		05.11.19 (c)	/	/	Jaune	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		21.11.19 (d)	Ascite clinique	/	Trouble	TC 8270.10 ⁶ /L PNN > 250.10 ⁶ /L	Protéines totales ± 15 g/L	Culture négative	Antibiothérapie par Rocéphine
		21.01.20 (e)	/	/	Trouble	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		06.02.20 (f)	/	/	Trouble	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
		11.02.20 (g)	/	/	Trouble	PNN < 250.10 ⁶ /L	/	Culture négative	/
27	Cirrhose OH, recherche cellules néoplasiques	/	/	Cirrhose multi nodulaire en progression, pas de nodule suspect	Jaune	TC 84.10 ⁶ /L > 50% LY	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
28	Cirrhose OH	/	/	Foie dysmorphique sans nodule suspect	Jaune	TC 113.10 ⁶ /L > 50% LY	/	/	/
29	Cirrhose OH, VHB+VHD, septicémie à pneumocoque, suspicion CHC	/	Décompensation œdémato-ascitique	Foie dysmorphique de cirrhose avec signes de décompensation œdémato-ascitique. Masse de 4.5cm du dôme hépatique suspecte de CHC	Orange	TC 239.10 ⁶ /L Formule panachée	Protéines totales < 15 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
30	Cirrhose OH	/	/	/	Jaune	TC 225.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	/	/
31	Cirrhose OH décompensée	/	Confusion, flapping tremor, ascite	Foie d'hépatopathie chronique. Ascite libre de grande abondance	Jaune	TC 53.10 ⁶ /L > 50% MON	Protéines totales < 15 g/L	/	/
32	Ascite réfractaire sur cirrhose métabolique	/	/	/	Lactescent	TC 99.10 ⁶ /L > 50% MON	Protéines totales < 15 g/L	/	/

N° patient	Maladie	Date	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
33	Cirrhose mixte OH et VHC	/	/	/	Lactescence	TC 152.10 ⁶ /L PNN < 250.10 ⁶ /L	Protéines totales < 15 g/L	/	/
34	Cirrhose OH	/	Décompensation œdémato-ascitique	Foie dysmorphique de cirrhose, sans lésion suspecte décelée	Jaune	TC 141.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales ± 15 g/L	/	/
35	Cirrhose mixte OH et métabolique, CHC	/	Décompensation ascitique, ictère cutanéomuqueux, altération de l'état général	Thrombose portale d'origine probablement tumorale	Jaune	TC 114.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	/	/
36	Cirrhose VHC	/	Ascite réfractaire	/	Jaune	TC 152.10 ⁶ /L 90% LY	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
37	Cirrhose OH	/	Ascite clinique	/	Jaune	TC 86.10 ⁶ /L Formule panachée	Protéines totales < 15 g/L	/	/
38	Cirrhose, suspicion de CHC et thrombose porte	/	Douleur abdominale aiguë	/	Trouble	TC 360.10 ⁶ /L PNN > 250.10 ⁶ /L	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	ISLA traitée par Cefotaxime
39	Cirrhose post-VHB et VHC	/	Décompensation œdémato-ascitique, douleur abdominale	/	Jaune	TC 80.10 ⁶ /L > 50% MON	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
40	CHC sur cirrhose mixte	/	/	Infiltration péritonéale	Trouble	TC 40.10 ⁶ /L > 50% LY	Gradient albumine > 11 g/L Protéines totales < 15 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/

41	Ascite réfractaire avec CHC multifocal récidivant	28.10.19 (a)	/	/	Jaune	TC 63.10 ⁶ /L > 50% LY	/	/	/
		28.11.19 (b)	/	/	Jaune	TC 170.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
		15.01.20 (c)	/	CHC récidivant malgré le traitement par radiofréquence	Jaune	TC 105.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	/	/
		23.01.20 (d)	/	/	Jaune	TC 80.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
		07.02.20 (e)	/	/	Jaune	TC 122.10 ⁶ /L > 50% LY	Protéines totales < 15 g/L	/	/
42	CHC métastatique, VHC, suspicion de carcinose péritonéale	/	Ascite récidivante	/	Jaune	TC 64.10 ⁶ /L > 50% MON	/	/	/

N° patient	Maladie	Date	Clinique	Imagerie	Aspect	Numération	Biochimie	Autres examens	Commentaire
------------	---------	------	----------	----------	--------	------------	-----------	----------------	-------------

43	CHC	/	/	/	Jaune	TC 111.10 ⁶ /L > 50% MON Nombreuses cellules mésothéliales	Protéines totales < 15 g/L	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/
44	Transplantation hépatique sur cirrhose OH	/	/	/	Jaune	TC 26.10 ⁶ /L > 50% LY	/	/	/

Contexte de néoplasie (non CHC)

45	Suspicion cancer gynécologique	/	Dyspnée sur embolie pulmonaire proximale bilatérale	Volumineuse masse kystique multicloisonnée abdominale + nodules de carcinose péritonéaux.	Brun	NR	NR	AP : Localisation d'un adénocarcinome d'origine gynécologique (compatible avec une origine plutôt ovarienne).	Cellules lysées +++
46	Cholangiocarcinome intra-hépatique multifocal	/	/	/	Jaune	TC 173.10 ⁶ /L > 50% LY	/	AP : Absence de cellules néoplasiques décelables	/

47	Cholangiocarcinome métastatique, carcinose péritonéale	/	Ascite clinique	/	Jaune	TC 111.10 ⁶ /L PNN < 250.10 ⁶ /L	/	/	/
48	Carcinome épidermoïde ORL métastatique	/	Ascite clinique	/	Trouble	TC 71.10 ⁶ /L > 50% MON	/	/	/
Autres contextes									
49	Anasarque foeto-placentaire	/	Infection à parvovirus B19	/	Jaune	TC 3255.10 ⁶ /L > 90% LY	/	/	/
50	Cirrhose mixte OH et VHC, accident de la voie publique	/	Décompensation œdémato-ascitique	/	Orange	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 100.10 ⁶ /L > 50% LY	/	/	/
51	Maladie veino-occlusive	GSCH sur aplasie idiopathique	Ascite clinique	/	Trouble	RBC > 10 000.10 ⁶ /L TC 100.10 ⁶ /L PNN < 250.10 ⁶ /L	Lipase 182 U/L Amylase 27,1 U/L Phosphore 1,80 mmol/L	/	/

Bibliographie

1. Bignardi GE. Flow cytometry for the microscopy of body fluids in patients with suspected infection. *J Clin Pathol*. 2015 Nov 1;68(11):870–8.
2. Buoro S, Seghezzi M, Dominoni P, Moioli V, Manenti B, Previtali G, et al. Lack of harmonization in high fluorescent cell automated counts with body fluids mode in ascitic, pleural, synovial, and cerebrospinal fluids. *Int J Lab Hematol*. 2019 Apr 13;00:1–10.
3. Sandhaus LM. Body Fluid Cell Counts by Automated Methods. *Clin Lab Med*. 2015 Mar 1;35(1):93–103.
4. Hammar SP. Nonneoplastic pleural disease. In: Dail and Hammar's Pulmonary Pathology. 2008. p. 1139–73.
5. Mercer RM, Corcoran JP, Porcel JM, Rahman NM, Psallidas I. Interpreting pleural fluid results. *Clin Med (Northfield Il)*. 2019;19(3):213–7.
6. Pastré J, Roussel S, Israël Biet D, Sanchez O. Orientation diagnostique et conduite à tenir devant un épanchement pleural. *Revue de Medecine Interne*. Elsevier Masson SAS; 2014 Apr.
7. Ingelfinger JR, Feller-Kopman D, Light R. Pleural disease. *N Engl J Med*. 2018 Feb 22;378(8):740–51.
8. Noppen M, De Waele M, Li R, Gucht K Vander, D'Haese J, Gerlo E, et al. Volume and cellular content of normal pleural fluid in humans examined by pleural lavage. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(3 I):1023–6.
9. Light RW. Diagnostic principles in pleural disease. *Eur Respir J*. 1997 Feb;10(2):476–81.
10. Item 202 Épanchement pleural. In: Collège des Enseignants de Pneumologie. 2018.
11. Item 354 Détresse respiratoire de l'adulte. In: Collège des Enseignants de Pneumologie. 2017. p. 1–14.
12. Épanchements pleuraux. 2018. [En ligne]. https://wiki.side-sante.fr/doku.php?id=sides:ref:reanimation:epanchement_pleuraux. Consulté le 02 septembre 2020.
13. British Thoracic Society Pleural disease guideline group. BTS pleural disease guideline. *Thorax*. 2010;65:(suppl 2) ii1-ii76.
14. Beaudoin S, Gonzalez A V. Evaluation of the patient with pleural effusion. *CMAJ*. 2018 Mar 12;190(10):E291–5.
15. Camus P. The Drug-Induced Respiratory Disease Website. [En ligne]. <https://www.pneumotox.com/drug/index/>. Consulté le 06 juin 2020.

16. Feller-Kopman DJ, Reddy CB, Gould MK, Balekian AA, DeCamp MM, Diekemper RL, et al. Management of malignant pleural effusions: An official ATS/STS/STR clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Oct 1;198(7):839–49.
17. Pellaton C, Monti M, Fitting JW. Ponction pleurale. *Rev Med Suisse*. 2008;4(177):2319–23.
18. Grancher T, Jeanne G. Biologie des liquides d'épanchement. BioMérieux; 2006. 152 p.
19. Kopcinovic LM, Culej J, Jokic A, Bozovic M, Kocijan I. Laboratory testing of extravascular body fluids: National recommendations on behalf of the croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. Part I – Serous fluids. *Biochem Medica*. 2020;30(1):1–29.
20. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972;77(4):507–13.
21. Fleming C, Russcher H, Lindemans J, De Jonge R. Clinical relevance and contemporary methods for counting blood cells in body fluids suspected of inflammatory disease. *Clin Chem Lab Med*. 2015 Oct 1;53(11):1689–706.
22. Bernaudin JF, Scherpereel A, Rekik WK, Hussenet C. Analyse du liquide pleural : Orientation en première intention. *Rev des Mal Respir Actual*. 2013 Jun;5(3):168–71.
23. SEED Body fluids Body fluid cell counts – how to perform and interpret the results. Sysmex Educational Enhancement and Development. 2019.
24. McGrath EE, Anderson PB. Diagnosis of pleural effusion: A systematic approach. *Am J Crit Care*. 2011 Mar 1;20(2):119–28.
25. P. Magro, M. Ferrandiere, E. Hazouard, E. Lemarie AR. Diagnostic des pleurésies (hors cancer). *Rev Mal Respir*. 2004;21:1191–6.
26. Association européenne pour l'étude du foie. Directives de pratiques cliniques de l'EASL sur la prise en charge de l'ascite, de la péritonite bactérienne spontanée, et du syndrome hépatorénal dans la cirrhose. *J Hepatol*. 2010;53:397–417.
27. De Tute RM. Flow cytometry and its use in the diagnosis and management of mature lymphoid malignancies. *Histopathology*. 2011 Jan;58(1):90–105.
28. Rocha G. Pleural effusions in the neonate. *Curr Opin Pulm Med*. 2007;13(4):305–11.
29. Buffet C. Conduite a tenir devant une ascite. *EMC - Hépatologie*. 2012 Jul;7(3):1–8.
30. Finci L, Mouraux S, Knuchel J, Bochatay L. Prise en charge de l'ascite inaugurale chez le patient cirrhotique. *Rev Med Sui*. 2017;13:1509–15.
31. Taourel P, Baud C, Lesnik A, Le Guen V, Pujol J, Bruel J. Formation médicale continue - le point sur... Le péritoine acteur de la pathologie abdominale. *J Radiol*. 2004;85:574–90.

32. Oey RC, van Buuren HR, de Man RA. The diagnostic work-up in patients with ascites: Current guidelines and future prospects. *Neth J Med*. 2016;74(8):330–5.
33. Nousbaum J. Infection du liquide d'ascite : diagnostic, traitement et prévention. In: *Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive*. 2015. p. 99–105.
34. Runyon BA. Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guideline management of adult patients with ascites due to cirrhosis. *Hepatology*. 2013 Apr;1–27.
35. Pariente A. Prise en charge de l'ascite de la cirrhose chez l'adulte (en dehors du syndrome hépatorénal). [En ligne]. <https://www.snfge.org/content/cp043-prise-en-charge-de-lascite-de-la-cirrhose-chez-ladulte-en-dehors-du-syndrome>. Consulté le 26 avril 2020.
36. Alric L. Ascite non cirrhotique. In: *Post'U*. 2016. p. 91–7.
37. Raphaël M. Ponction d'ascite. *J Eur des Urgences Reanim*. 2014;26(2):128–9.
38. Roccaforte V, Zavaroni E, Russo RM, Porreca WP, Proserpio V, Liuzzi G, et al. Comparison between body fluid mode of Sysmex XN-9000 and optical microscopy for the counting of cells in ascitic fluid. *J Lab Precis Med*. 2018 Oct;3:1–5.
39. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut*. 2006;55(SUPPL. 6):vi1–12.
40. Piaton E, Fabre M, Goubin-Versini I, Bretz-Grenier MF, Courtade-Saïdi M, Vincent S, et al. Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa : revue de la littérature et apport de l'assurance qualité. Vol. 35, *Annales de Pathologie*. Elsevier Masson SAS; 2015. p. 294–305.
41. Sysmex. Utilisation du mode Liquides de Ponction sur XN. 2015.
42. Gérard D. Liquides d'épanchements : analyse par l'hématimètre XN (SYSMEX®), évaluation de la formule automatisée et mise en évidence des cellules pathologiques par cytométrie en flux. Université de Lorraine; 2017.
43. Münster M, Sysmex Europe GmbH. Overview of the benefits of switching from a 3-part differential to a 5-part differential haematology analyser. SEED Haematol Sysmex Educ Enhanc Dev. 2012. [En ligne] https://www.sysmex-europe.com/fileadmin/media/f100/SEED/Sysmex_SEED_Switching_from_a_3-part_differential_to_a_5-part_differential_haematology_analyser.pdf. Consulté le 24 août 2020.
44. Fleming C, Brouwer R, Lindemans J, De Jonge R. Validation of the body fluid module on the new sysmex XN-1000 for counting blood cells in cerebrospinal fluid and other body fluids. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Oct 1;50(10):1791–8.

45. Desquilbet L. Guide pratique de validation statistique de méthodes de mesure : répétabilité, reproductibilité, et concordance. 2012. [En ligne]. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02103716>. Consulté le 31 septembre 2020.
46. Organisation internationale de normalisation (ISO). Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions. 1994. [En ligne]. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-1:ed-1:v1:fr>. Consulté le 21 septembre 2020.
47. Sysmex. RIAM : Complément régional au mode d'emploi-Sysmex XN-Series. 2017. [En ligne]. <http://enwww.sysmex-europe.com>. Consulté le 26 mai 2020.
48. Fleming C, De Bruin M, Russcher H, Lindemans J, De Jonge R. Liposomal interference on Sysmex XN-series body fluid mode. Vol. 54, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. Walter de Gruyter GmbH; 2016. p. e19–23.
49. Favresse J, van Dievoet MA, De Wolf H, Rodriguez-Villalobos H, Defour JP. Characterization of *Candida* spp. interference on the Sysmex XN-1000 body fluid mode. Vol. 40, *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. e28–32.
50. Statistical Tools For High-Throughput Data Analysis. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.sthda.com/french/rsthda/paired-t-test.php>. Consulté le 11 septembre 2020.
51. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Int J Nurs Stud*. 2010;47:931–6.
52. FAUTREL B. Protocole National de Diagnostic et de Soins - Maladie de STILL de l'adulte. 2017.
53. Cho YU, You E, Jang S, Park CJ. Validation of reflex testing rules and establishment of a new workflow for body fluid cell analysis using a Sysmex XN-550 automatic hematology analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2018 Jun 1;00(1):1–10.
54. Girard S, Fenneteau O, Mestrallet F, Troussard X, Lesesve JF. Recommandations pour l'analyse du liquide céphalorachidien au cours des leucémies aiguës. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2017 Sep 1;75(5):503–12.
55. Fleming C, Russcher H, Brouwer R, Lindemans J, De Jonge R. Evaluation of Sysmex XN-1000 high-sensitive analysis (hsA) research mode for counting and differentiating cells in cerebrospinal fluid. *Am J Clin Pathol*. 2016 Mar 1;145(3):299–307.
56. Sandhaus LM. Is the hemocytometer obsolete for body fluid cell counting? Vol. 145, *American Journal of Clinical Pathology*. American Society of Clinical Pathologists; 2016. p. 294–5.
57. Aguadero V, Cano-Corres R, Berlanga E, Torra M. Evaluation of biological fluid analysis using the sysmex XN automatic hematology analyzer.
58. Buoro S, Mecca T, Azzarà G, Seghezzi M, Dominoni P, Crippa A, et al. Cell Population

- Data and reflex testing rules of cell analysis in pleural and ascitic fluids using body fluid mode on Sysmex XN-9000. *Clin Chim Acta*. 2016 Jan 15;452:92–8.
59. Favresse J, Fervaille C, Wuestenberghs F, Chatelain B, Mullier F, Jacqmin H. Utility of the XN-1000 research mode for leukocytes counting in ascitic and pleural fluids. Vol. 42, *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. e92–5.
 60. Takemura H, Ai T, Kimura K, Nagasaka K, Takahashi T, Tsuchiya K, et al. Evaluation of cell count and classification capabilities in body fluids using a fully automated Sysmex XN equipped with high-sensitive Analysis (hsA) mode and DI-60 hematology analyzer system. *PLoS One*. 2018 Apr 1;13(4):1–9.
 61. Huang WH, Lu LP, Wu K, Guo FY, Guo J, Yu JL, et al. Extent of agreement between the body fluid model of Sysmex XN-20 and the manual microscopy method. *J Clin Lab Anal*. 2016 Sep 1;1–4.
 62. Labaere D, Boeckx N, Geerts I, Moens M, Van den Driessche M. Detection of malignant cells in serous body fluids by counting high-fluorescent cells on the Sysmex XN-2000 hematology analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2015 Oct 1;37(5):715–22.
 63. Wong-Arteta J, Merino A, Torrente S, Banales JM, Bujanda L. High fluorescence cell count in ascitic body fluids for carcinomatosis screening. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018.
 64. Wong-Arteta J, Gil-Rodríguez E, Cabezon-Vicente R, Bereciartua-Urbieta E, Bujanda L. High fluorescence cell count in pleural fluids for malignant effusion screening. *Clin Chim Acta*. 2019 Dec 1;499:115–7.
 65. Ai T, Tabe Y, Takemura H, Kimura K, Takahashi T, Yang H, et al. Novel flowcytometry-based approach of malignant cell detection in body fluids using an automated hematology analyzer. *PLoS One*. 2018 Feb 1;13(2):1–13.
 66. Xu W, Yu Q, Xie L, Chen B, Zhang L. Evaluation of Sysmex XN-1000 hematology analyzer for cell count and screening of malignant cells of serous cavity effusion. *Med (United States)*. 2017;96(27).
 67. Cho YU, Chi HS, Park SH, Jang S, Kim YJ, Park CJ. Body fluid cellular analysis using the Sysmex XN-2000 automatic hematology analyzer: Focusing on malignant samples. *Int J Lab Hematol*. 2015 Jun 1;37(3):346–56.
 68. Rastogi L, Dass J, Arya V, Kotwal J. Evaluation of high-fluorescence body fluid (HF-BF) parameter as a screening tool of malignancy in body fluids. *Indian J Pathol Microbiol*. 2019 Oct 1;62(4):572–7.

Université

de Strasbourg

Faculté
de médecine**DECLARATION SUR L'HONNEUR****Document avec signature originale devant être joint :****- à votre mémoire de D.E.S.****- à votre dossier de demande de soutenance de thèse**Nom : LECOMTEPrénom : Sarah

Ayant été informé(e) qu'en m'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans mon propre mémoire de spécialité ou dans mon mémoire de thèse de docteur en médecine, je me rendrais coupable d'un délit de contrefaçon au sens de l'article L335-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle et que ce délit était constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics,

Ayant été avisé(e) que le président de l'université sera informé de cette tentative de fraude ou de plagiat, afin qu'il saisisse la juridiction disciplinaire compétente,

Ayant été informé(e) qu'en cas de plagiat, la soutenance du mémoire de spécialité et/ou de la thèse de médecine sera alors automatiquement annulée, dans l'attente de la décision que prendra la juridiction disciplinaire de l'université

J'atteste sur l'honneur

Ne pas avoir reproduit dans mes documents tout ou partie d'œuvre(s) déjà existante(s), à l'exception de quelques brèves citations dans le texte, mises entre guillemets et référencées dans la bibliographie de mon mémoire.

A écrire à la main : « J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète ».

J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète.

Signature originale :

A Strasbourg, le 02/03/20

Photocopie de cette déclaration devant être annexée en dernière page de votre mémoire de D.E.S. ou de Thèse.

RESUME :

Introduction : La numération cellulaire et l'étude cytologique des liquides d'épanchement est une étape diagnostique importante dans l'exploration de leurs causes, parfois graves et menaçant la vie du patient. Elle nécessite une prise en charge rapide par le laboratoire d'hématologie et un résultat précis afin de permettre une prise en charge adaptée du patient et de sa pathologie. L'analyse par technique manuelle, via cellule de comptage et réalisation d'une lame de cyto centrifugation colorée au May-Grünwald Giemsa examinés au microscope optique, est considérée comme la technique de référence pour l'étude des liquides d'épanchement. Ce type de technique est toutefois entaché d'une forte variabilité inter-opérateur et est peu reproductible, tout en demandant un personnel hautement qualifié et un temps de traitement long. Depuis quelques années les constructeurs d'automates de numération-formule sanguine ont développé des modules d'analyse dédiées au liquides biologiques.

Méthode : Afin d'utiliser le module XN-BF, dédié à l'analyse des liquides biologiques, sur l'hématimètre XN du constructeur Sysmex®, nous avons comparé cette méthode automatisée avec la méthode manuelle déjà en place au laboratoire et réalisé un dossier de validation de méthode, en étudiant les liquides d'ascite et les liquides pleuraux.

Résultats : La méthode automatisée d'étude des liquides biologiques montre une bonne corrélation avec la méthode manuelle concernant la numération des cellules nucléées, leucocytes et hématies. Elle montre également une bonne concordance pour ces paramètres principalement pour des liquides à concentration cellulaire faible. La concordance plus faible retrouvée pour les liquides à concentration cellulaire élevée peut s'expliquer par des erreurs liées à la technique manuelle, et notamment à la nécessité d'une dilution préalable de l'échantillon et de la méthode de numération qui tendent à surestimer le résultat. L'étude de la formule automatisée montre une bonne corrélation et concordance pour les polynucléaires neutrophiles, mais une corrélation insatisfaisante pour les lymphocytes, monocytes, polynucléaires éosinophiles et cellules de haute fluorescence. Ces dernières semblent présentes en plus grande quantité dans les liquides contenant des cellules pathologiques (métastases, lymphome).

Conclusion : Sur la base de ces résultats et de bonnes performances de l'automate, la numération automatisée sera mise en place en routine dans notre laboratoire. Nous continuerons à réaliser une formule leucocytaire en microscopie optique de façon systématique, en l'absence de rendu de ces paramètres par l'automate.

Rubrique de classement : Biologie médicale

Mots-clés : Ascite, liquide pleural, numération cellulaire, cytologie, XN-BF, comparaison de méthode

Président : Pr MAUVIEUX Laurent**Asseseurs :** Dr EISCHEN Alice, Pr LESSINGER Jean-Marc, Pr ANDRES Emmanuel, Dr ENACHE Irina

Adresse de l'auteur : 3 rue des Combattants Africains 67100 STRASBOURG