

HEMATOLOGIE - CYTOLOGIE

- ESTBA -

Ecole Supérieure des Techniques
de la Biologie Appliquée



Ingrid CONTASSOT – Technicienne de Laboratoire
CHU Robert Debré - APHP

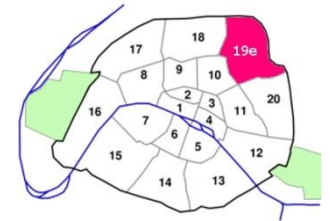
PRESENTATION

 Hôpital universitaire
Robert-Debré



Spécificité:
PEDIATRIE

Centre de
référence de
Maladies Rares



- Technicienne de Laboratoire en Hématologie Biologique
- Pratique la Cytologie depuis plus de 11 ans
- Référente des automates Sysmex® du laboratoire

Laboratoire
JOUR

Chaîne XN3000

2 Analyseurs XN10

1 Etaleur-colorateur



Pas de DM

→ 4 microscopes optiques

Laboratoire Pluridisciplinaire de
GARDE

XT2000i



Hématologie Biologique





Chaîne XN3000

XN 10 ① : CBC, DIFF, RET

XN 10 ② : CBC, DIFF, RET et PLTF

SP10i: Etalement de frottis en fonction de l'HCT + coloration MGG



CBC = Numération Globulaire

- ⇒ GB, GR, PLQ
- ⇒ Constantes Erythrocytaires
- ⇒ Erythroblastes

PP: Photométrie / Impédance

DIFF = Formule Leucocytaire

- ⇒ PNN, PNE, PNB, LY, Mo,
- ⇒ Myélémie (IG)

PP: Fluorescence des cellules (ADN/ARN)

RET

- ⇒ Numération des Réticulocytes
- ⇒ Numération de GR (optique)

PP: Fluorescence (ARN/ADN)

PLT-F

Numération plaquettes

PP: Fluorescence par marquage spécifique



XT2000i
NUM, DIFF, RET

☠ Ne compte pas les érythroblastes ➡ GB

NUM = Numération Globulaire

- ⇒ GB, GR, PLQ
- ⇒ Constantes Erythrocytaires

PP: Photométrie / Impédance

DIFF = Formule Leucocytaire

- ⇒ PNN, PNE, PNB, LY, Mo,
- ⇒ Myélémie (IG)

PP: Fluorescence des cellules (ADN/ARN)

RET

- ⇒ Numération des Réticulocytes
- ⇒ Numération de GR (optique)

PP: Fluorescence (ARN/ADN)

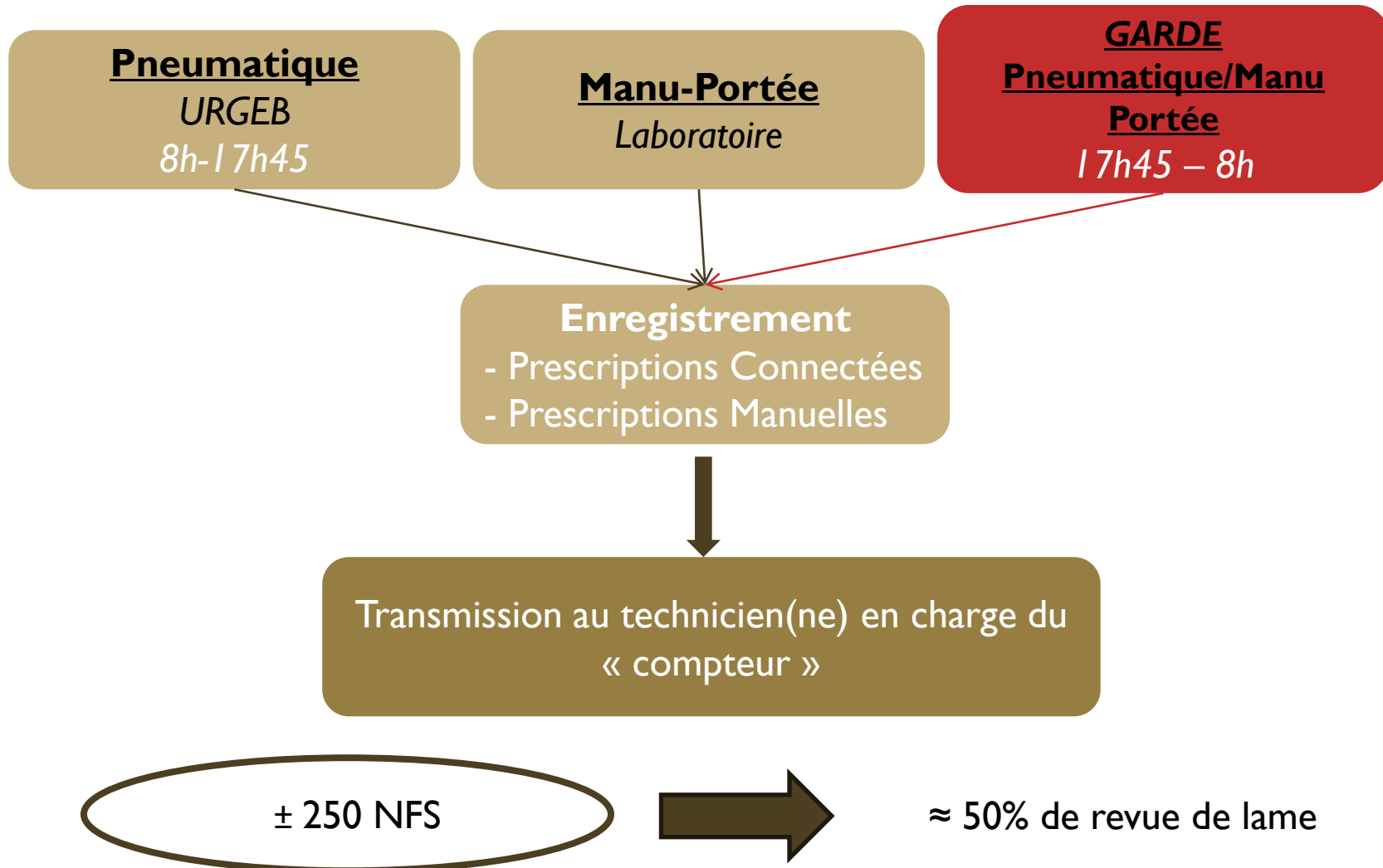


Colorateur Boréalys de Biocentric®
lames manuelles
Coloration au May Grunwald Giemsa

Ensemble des frottis manuels

- ⇒ Sanguins
- ⇒ Médullaires
- ⇒ LCR

Acheminement des Prélèvements



Réalisation des examens (I)

Mode de passage: Manuel / Automatique → 88 µL de sang

-Fonction du **type de tube**: tubes pédiatriques

↳ Tubes de 1.6 mL et 2.4 mL ⇨ Automatique

↳ Tubes de 500 µL « Microvette » ⇨ Manuel (obligatoire)

- Fonction du **niveau de remplissage** des tubes

Lame SPI0i ou Lame manuelle?

-Une **lame SPI0i** en cas de relecture de lame ⇨ Gestion par le middleware en fonction d'algorithme défini par le LBM (gestion des alarmes)

-Une **lame manuelle** pour les demandes particulières: recherches spécifiques sur les différentes lignées cellulaires

-Une **lame manuelle** pour les microvettes (contrainte technique)

Réalisation des examens (2)

SIL → numéro d'échantillon avec code à barre

Connexion Bidirectionnelle

- ① L'analyseur interroge le SIL pour savoir quelles analyses sont demandées
- ② L'analyseur envoie les résultats au middleware après analyse
- ③ Le technicien valide techniquement via le middleware le bilan en fonction des règles définies au LBM
- ④ Le middleware envoie les résultats de l'analyseur sur le SIL
- ⑤ Le bilan est validé biologiquement via le SIL

A Debré chaque NFS est validée
TECHNIQUEMENT puis **BIOLOGIQUEMENT**

✘ Pas de système de validation automatique

Gestion des Alarmes

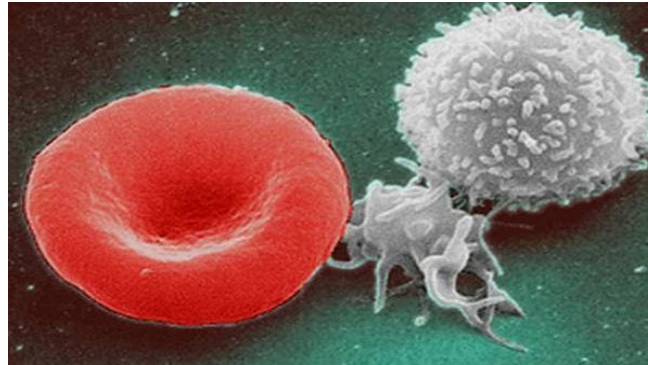
Quantitative: anomalie de nombre

Qualitative: anomalie de structure, de positionnement...

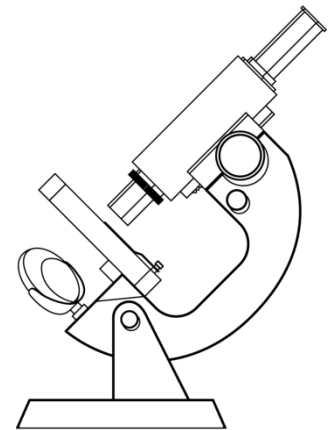
Lignée
Erythrocytaire

Lignée
Leucocytaire

Lignée
Plaquettaire



Revue de lames au microscope optique



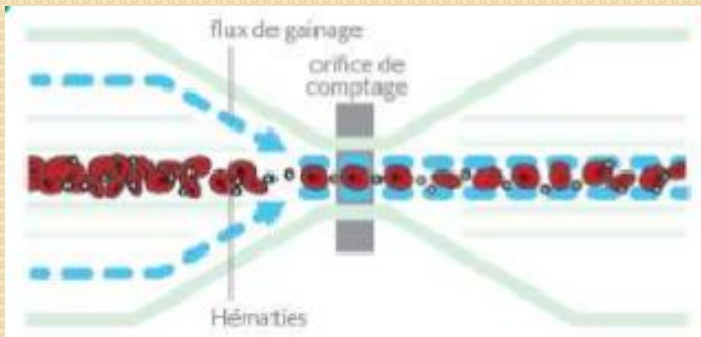
Lignée Erythrocytaire



Canal GR/PLQ

Principe d'analyse:

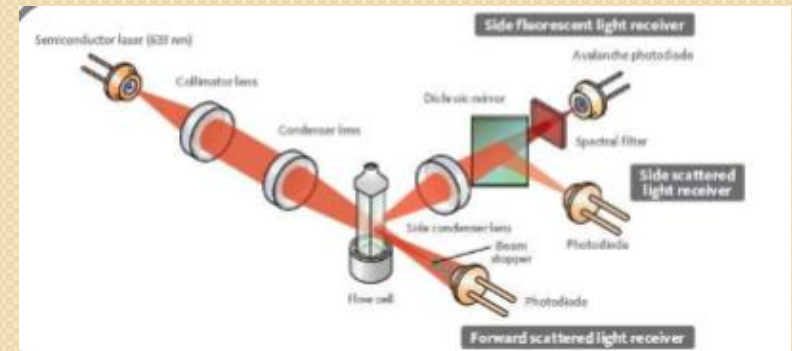
IMPEDANCEMETRIE



Canal RET

Principe d'analyse:

Mesure optique par CYTOMETRIE EN FLUX



**Principe de mesure – Hématies
(Technologie Sysmex®)**

Alarmes Quantitatives

Microcytose ☞ VGM < 70 fl

Anémie ☞ HGB < 8 g/dl

Hypochromie ☞ CCMH < 29 g/dl

Alarmes de suspicion

Carence en fer?

CCMH < 31 g/dl, VGM < 75 fl, IDR-CV > 15%, HGB < 11 g/dl

Anomalie de l'hémoglobine? VGM < 75 fl, IDR-CV > 15%

Turbidité Hgb? CCMH > 36.5 g/dl

Alarmes Qualitatives

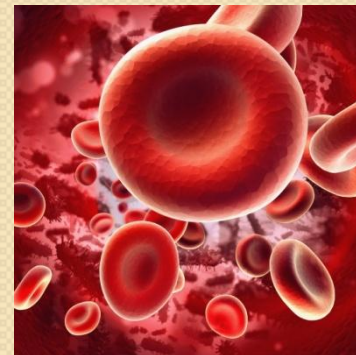
Anisocytose

☞ IDR-CV > 22%

☞ IDR-SD > 65 fl

Distribution anormale de la courbe impédance des GR

Double population (transfusion)



Hématies

Limites des automates (I)

Quelles sont les anomalies renseignées par les automates?

Anomalies de
TAILLE

Anomalies de
TEINTE

Anomalies de
FORME

(indirectement renseignées)

- Microcytes
- Macrocytes

- Hypochromie
- Polychromatophilie

- GR fracturée
(schizocytes)
- GR Fragmentée

Hématies

Nouveau Né (à terme)

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB &	13.66	[10 ³ /uL]
GR	5.28	[10 ⁶ /uL]
HGB	19.6	[g/dL]
HCT	56.3	[%]
VGM	106.6	[fL]
TCMH	37.1	[pg]
CCMH	34.8	[g/dL]
IDR-SD	72.3	[fL]
IDR-CV	19.0	[%]
PLQ	190	[10 ³ /uL]
VPM	11.7	[fL]

NEUT	7.75 *	[10 ³ /uL]	56.7 *	[%]
LYMPH	3.56 *	[10 ³ /uL]	26.1 *	[%]
MONO	1.88 *	[10 ³ /uL]	13.8 *	[%]
EO	0.44 *	[10 ³ /uL]	3.2 *	[%]
BASO	0.03 *	[10 ³ /uL]	0.2 *	[%]
NRBC	0.70	[10 ³ /uL]	5.2	[/100WBC]
RET	281.4	[10 ⁹ /L]	5.33	[%]
IRF	40.0	[%]		
LFR	51.0	[%]		
MFR	22.1	[%]		
HFR	26.9	[%]		

RET-He	35.4	[pg]		
IG	0.07	[10 ³ /uL]	0.5	[%]

Action Message.

Message(s) GB

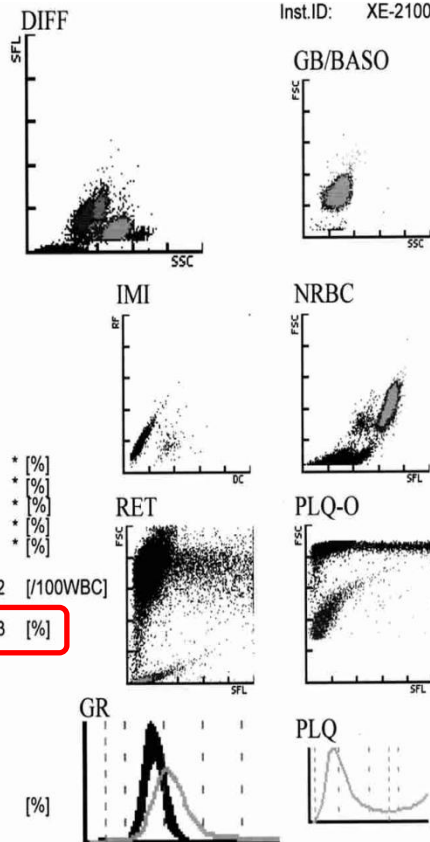
Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

Présence NRBC

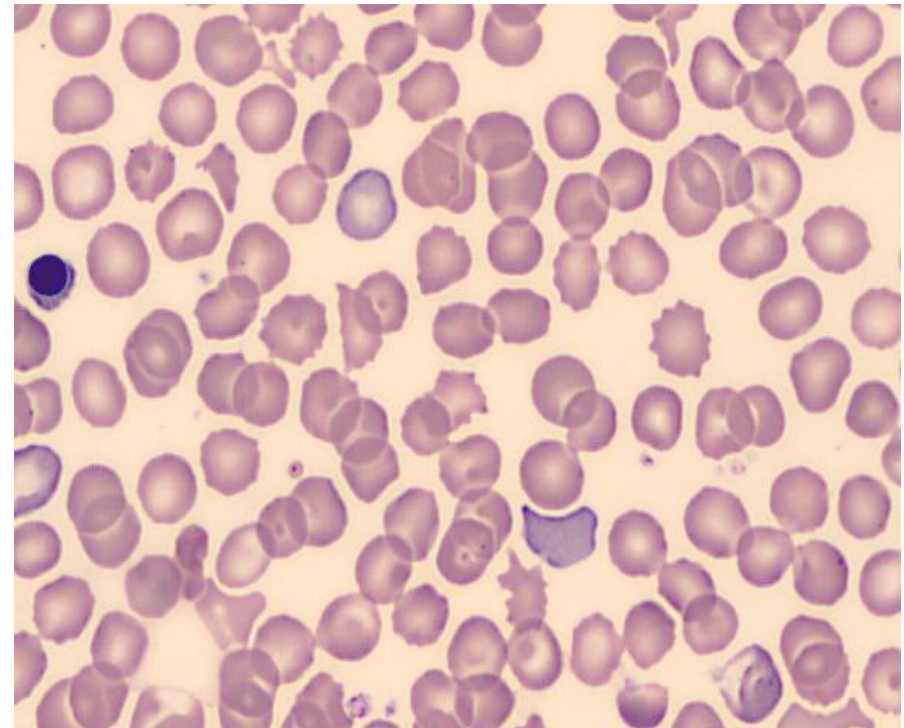
Anisocytose

Anor. Lymph./L-BI?

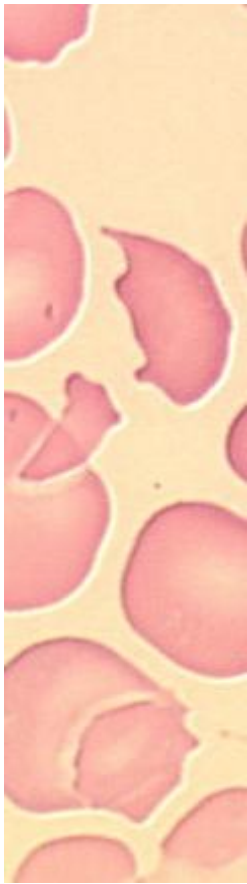


Inst.ID: XE-2100

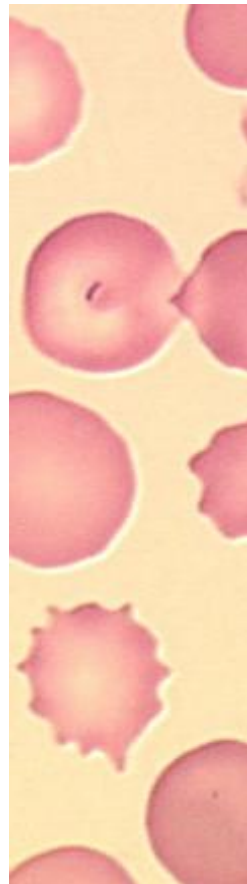
- Polyglobulie
- Macrocytaire :VGM 97-122 fl
- Réticulocytes élevé → 300x10⁹/L



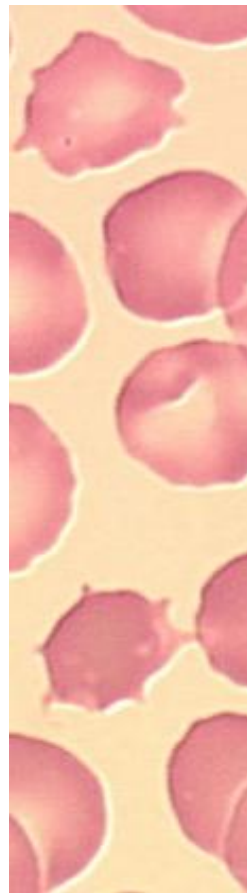
Morphologie des Hématies du NNE



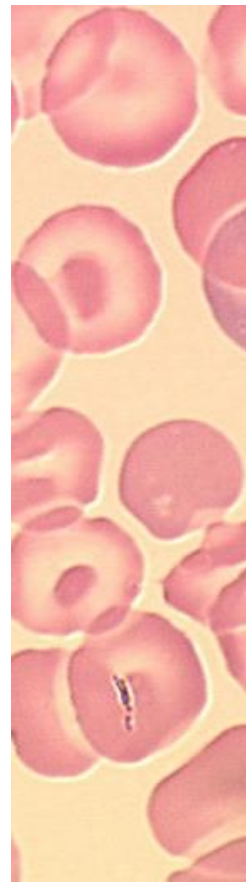
Pyknocyte



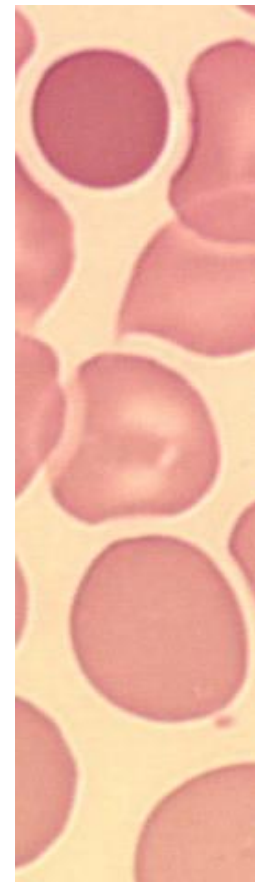
Echinocyte



Acanthocyte



Hématies cibles



Sphérocytes



Corps de Jolly

Hématies

Anémie Ferriprive

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB	10.35 *	[10 ³ /uL]
GR	4.11	[10 ⁶ /uL]
HBG	5.3	[g/dL]
HCT	21.3	[%]
VGM	51.8	[fL]
TCMH	12.9	[pg]
CCMH	24.9	[g/dL]
IDR-SD	43.6	[fL]
IDR-CV	23.2	[%]

PLQ & 1456 @ [10³/uL]

VPM 9.1 * [fL]

NEUT	3.66 *	[10 ³ /uL]	35.3 *	[%]
LYMPH	4.42 *	[10 ³ /uL]	42.7 *	[%]
MONO	1.52 *	[10 ³ /uL]	14.7 *	[%]
EO	0.69 *	[10 ³ /uL]	6.7 *	[%]
BASO	0.06 *	[10 ³ /uL]	0.6 *	[%]

NRBC [10³/uL] [100WBC]

RET	34.9	[10 ⁹ /L]	0.85	[%]
IRF	15.8	[%]		
LFR	84.2	[%]		
MFR	13.3	[%]		
HFR	2.5	[%]		

RET-He 11.7 [pg]

IG 0.01 * [10³/uL] 0.1 * [%]

Action Message.

Compt. Canal NRBC

Message(s) GB

Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

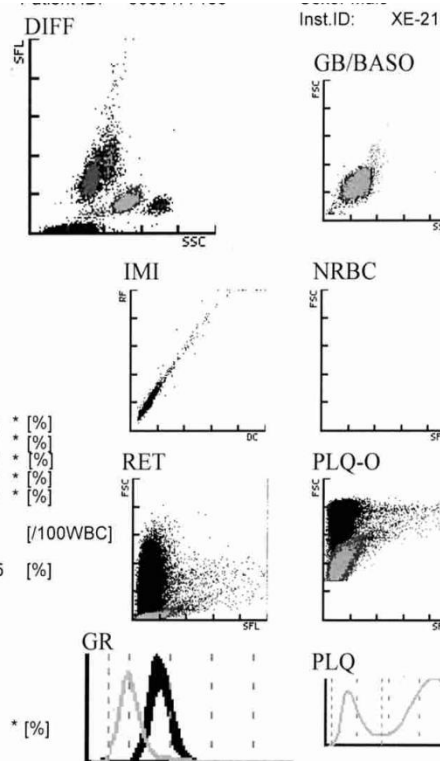
Anisocytose

Dist. PLQ anorm.

Lympho Aty.?
Anor. Lymph./L-BI?
NRBC?

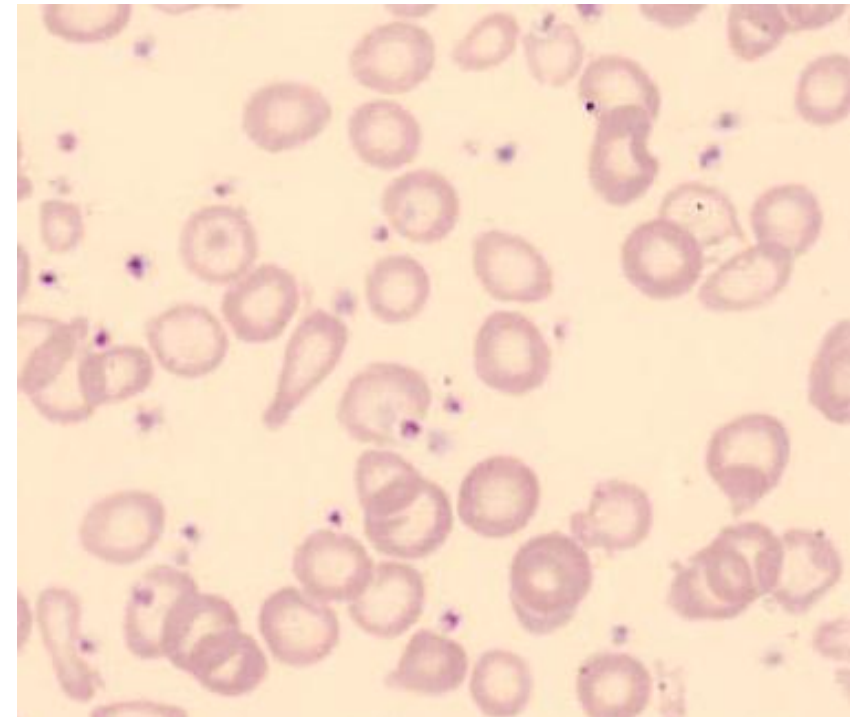
Fragments?

Agr. PLQ?



Anémie microcytaire hypochrome

↳ Hématies cibles, elliptocytes, microcytes



Hématies

Incompatibilité ABO

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB &	15.34	[10 ³ /uL]
GR	2.46	[10 ⁶ /uL]
HGB	10.0	[g/dL]
HCT	30.1	[%]
VGM	122.4	[fL]
TCMH	40.7	[pg]
CCMH	33.2	[g/dL]
IDR-SD	0.9	[%]
IDR-CV	24.6	[%]
PLQ	260	[10 ³ /uL]
VPM	10.8	[fL]

NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
BASO	0.14 *	[10 ³ /uL]	0.9 *	[%]
NRBC	8.14	[10 ³ /uL]	53.1	[/100WBC]
RET	534.1	[10 ⁹ /L]	21.71	[%]
IRF	48.1	[%]		
LFR	51.9	[%]		
MFR	24.1	[%]		
HFR	24.0	[%]		
RET-He	35.2	[pg]		
IG	---	[10 ³ /uL]	---	[%]

Action Message.

Message(s) GB

Scatter. GB Anorm.
Présence NRBC

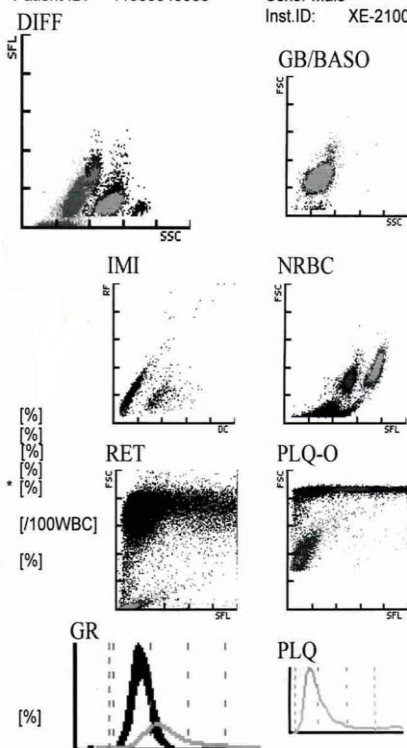
Gran. Immatures?
Anor. Lymph./L-BI?

Message(s) GR/RET

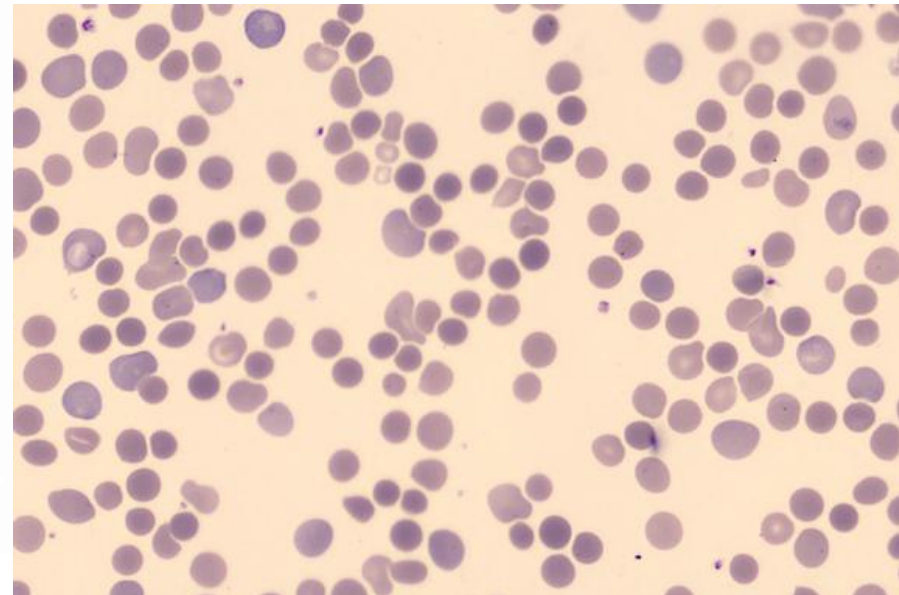
Anisocytose

Fragments?

Message(s) PLQ



- Nouveau-né → anémie sévère
 - Régénérative ++ : ↗ le VGM, ↘ CCMH
 - Sphérocytes ++ (≈ sphérocytose héréditaire)
 - Test de Coombs: POSITIF
- ↳ la mère de groupe O et l'enfant de groupe A
ce qui est en faveur d'une incompatibilité ABO



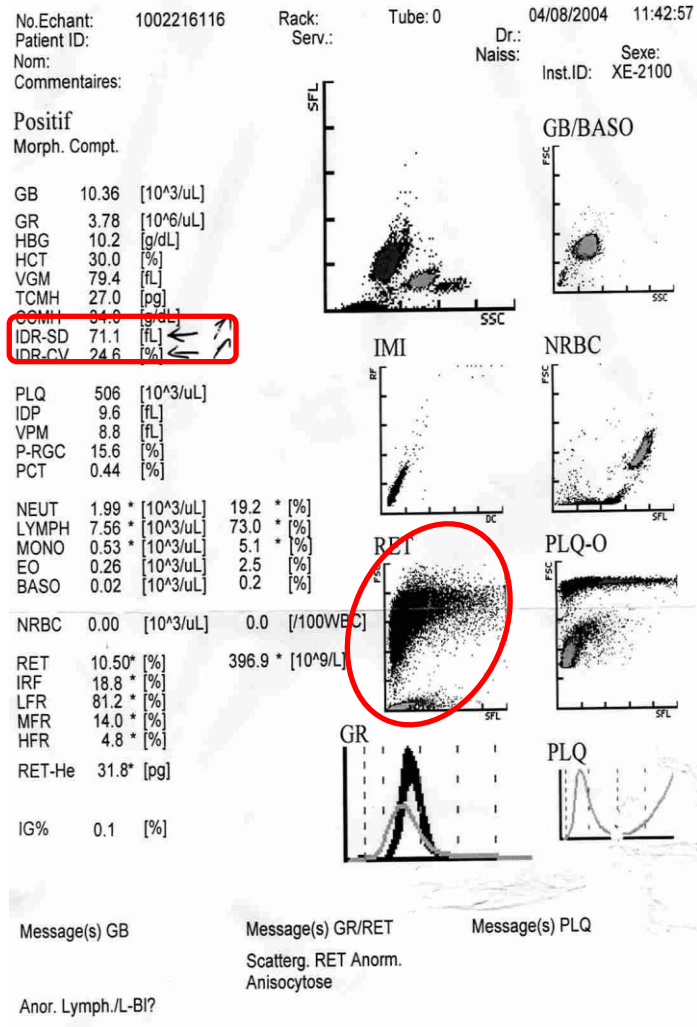
Hématies

Sphérocytose Hériditaire

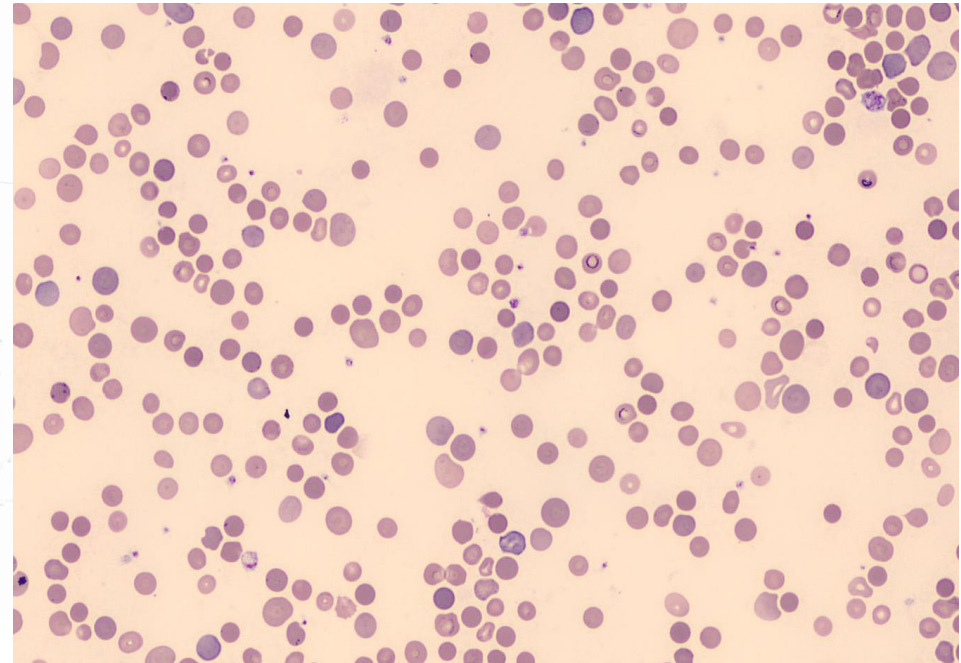
TAILLE

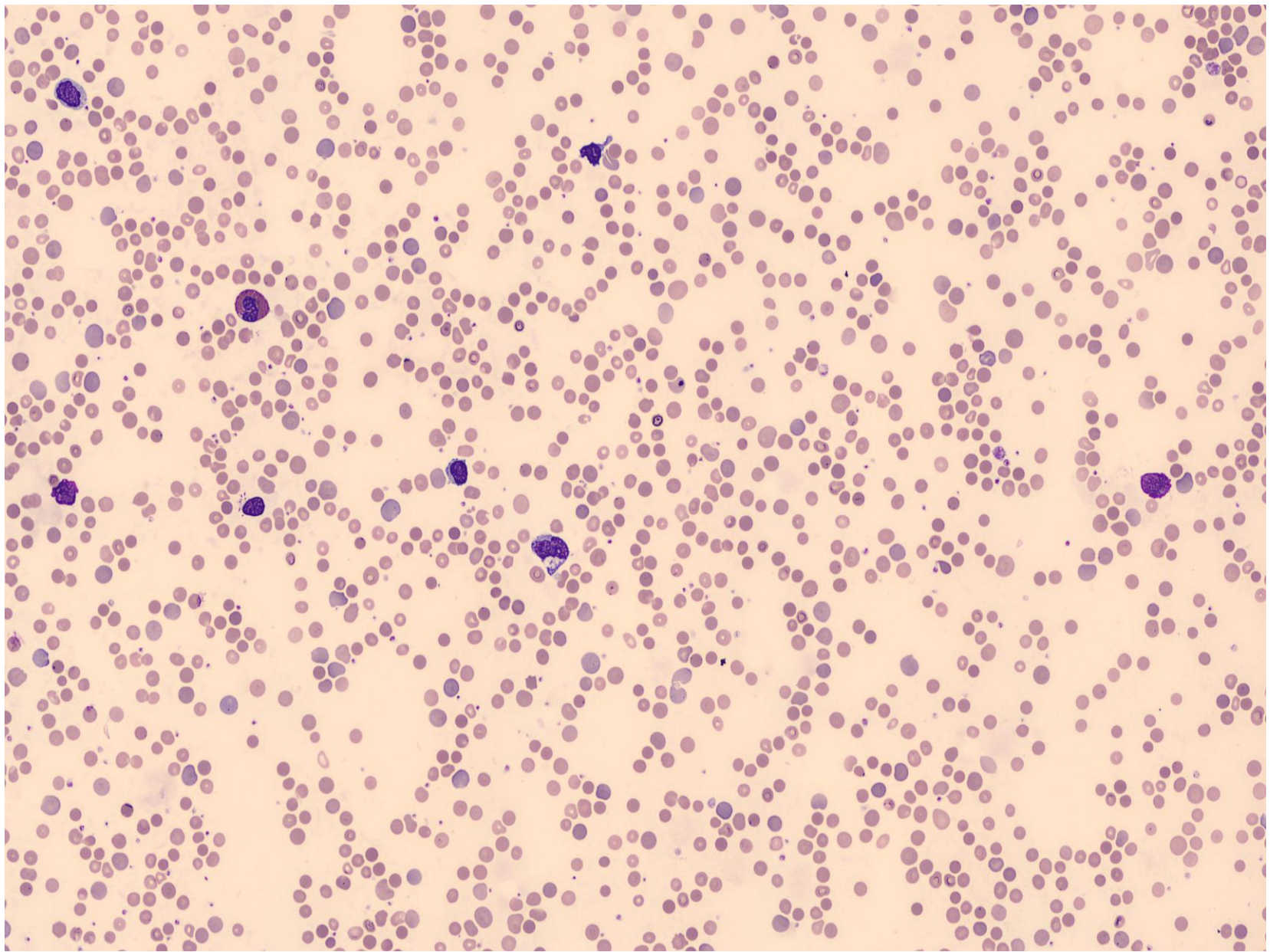
TEINTE

FORME



- Sphérocytes ++
- Réticulocytes ++ avec aspect du graphe (LFR ↗)
- Alarme scatterg RET Anorm
- IDR-SD et CV ↗
- CCMH normale





Spherocytose

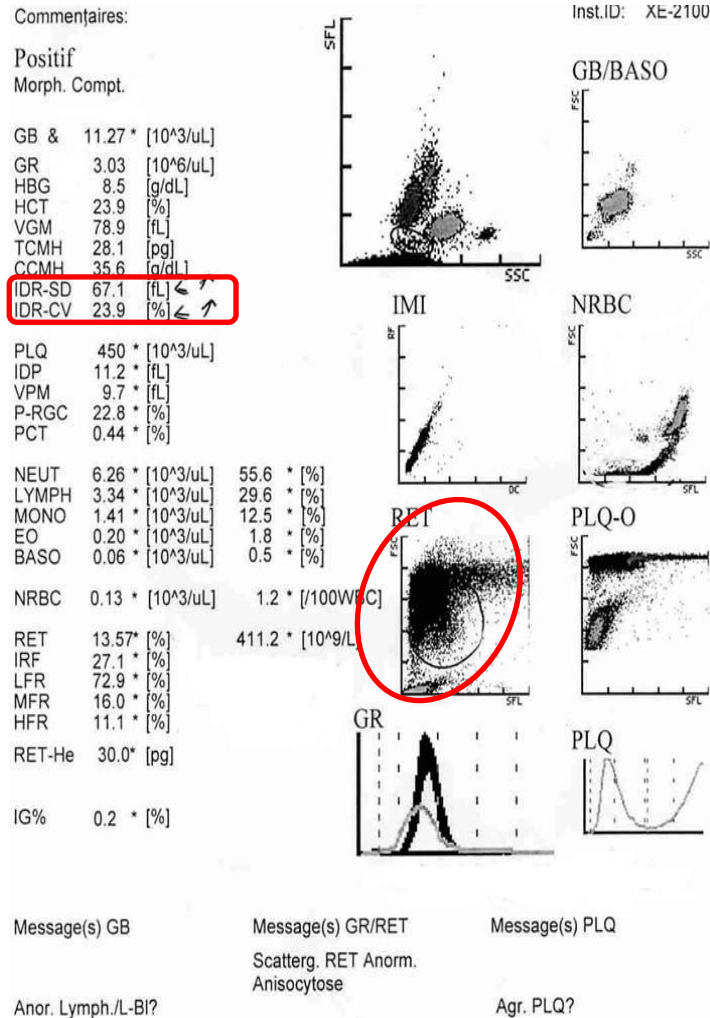
Hématies

Drépanocytose Homozygote

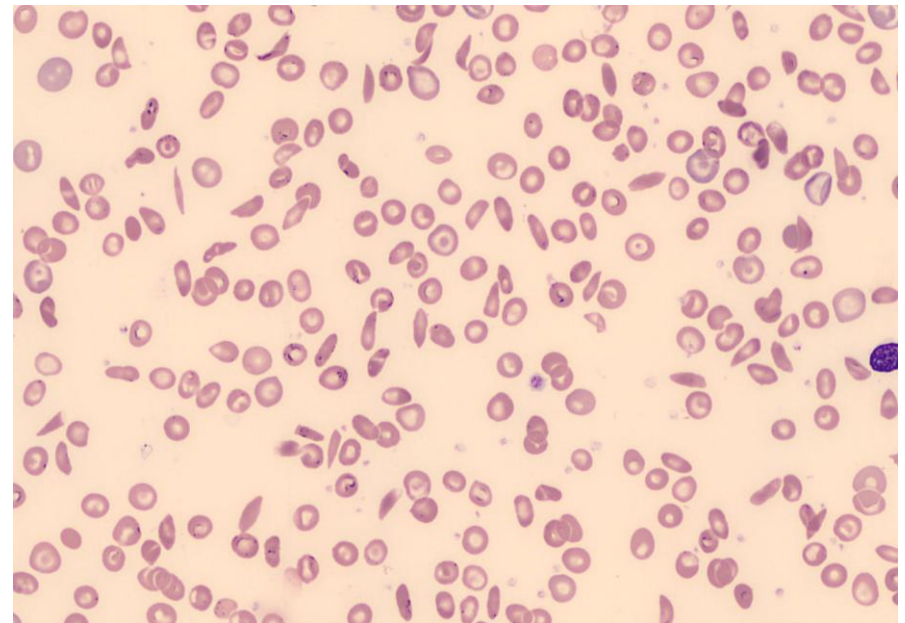
TAILLE

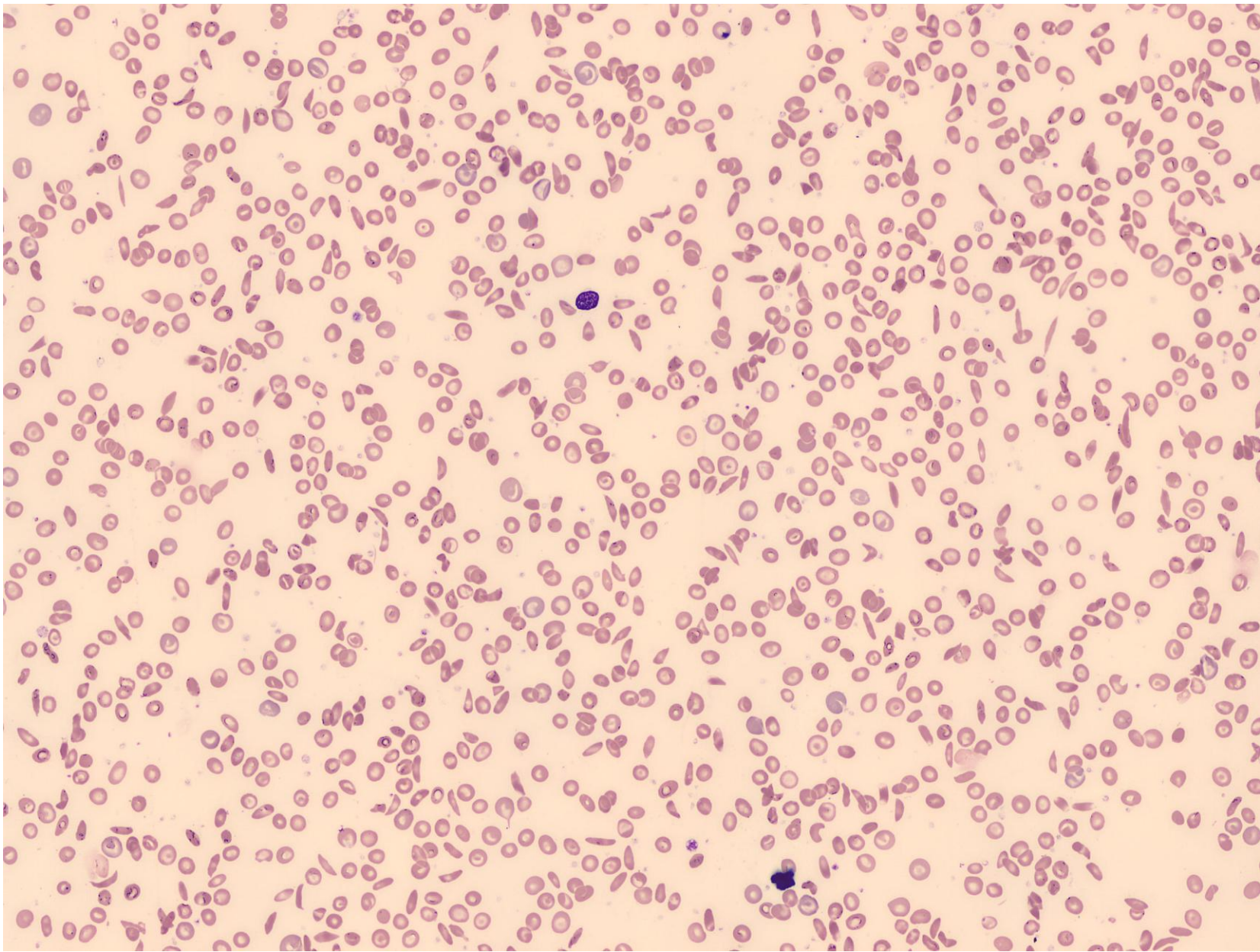
TEINTE

FORME



- Drépanocytes, hématies cibles, corps de jolly (asplénie fonctionnelle),
- Réticulocytes ↗,
- Canal RET: le nuage de GR a une forme rectangulaire évocatrice, avec la fraction la plus à droite des globules rouges → LFR
- Réticulocytes surestimés → bleu de Cresyl





Drépanocytose

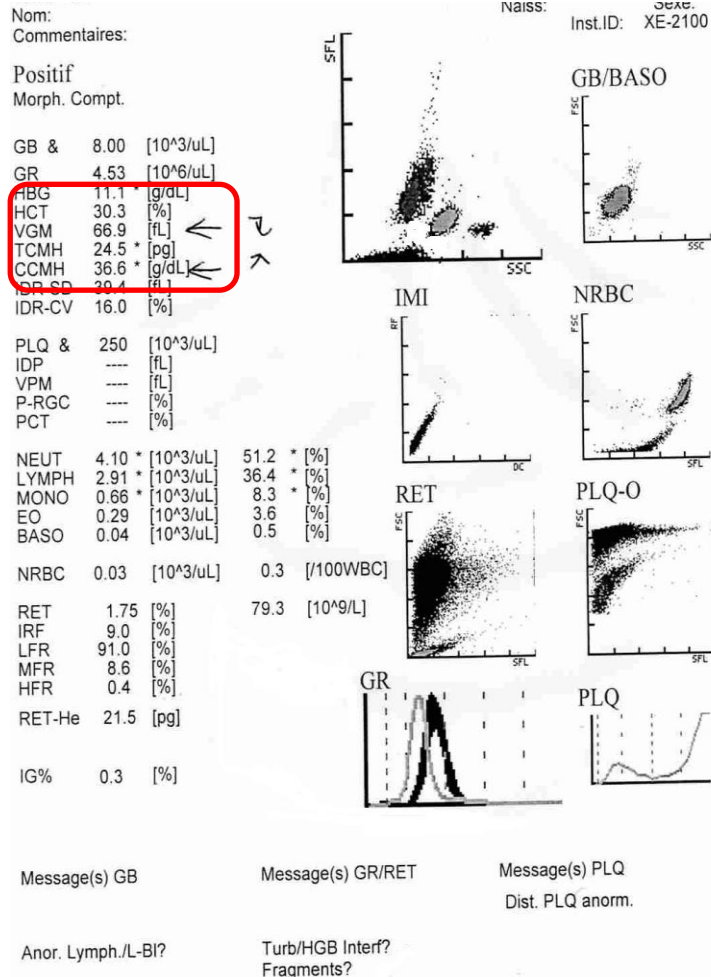
Hématies

Hémoglobine C

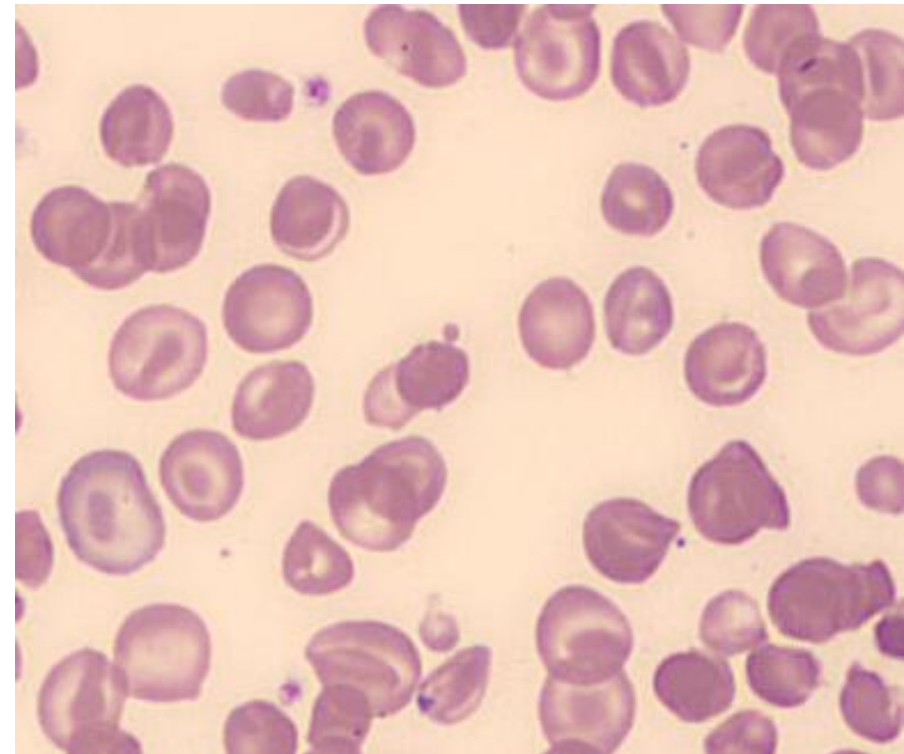
TAILLE

TEINTE

FORME



- Anémie discrète
 - Microcytaire
 - Hyperchrème (déshydratation due à l'HbC)
 - Hématies cibles ++
- ↳ un aspect » vrillé »
 déformée par les cristaux d'hémoglobine C



Hématies

Beta-Thalassémie

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB	9.09	[10 ³ /uL]
GR	5.44	[10 ⁶ /uL]
HBG	10.5	[g/dL]
HCT	31.9	[%]
VGM	58.6	[fL]
TCMH	19.3	[pg]
CCMH	32.9	[g/dL]
IDR-SD	31.3	[fL]
IDR-CV	14.9	[%]

PLQ &	322	[10 ³ /uL]
VPM	----	[fL]

NEUT	4.72 *	[10 ³ /uL]	51.9 *	[%]
LYMPH	3.41 *	[10 ³ /uL]	37.5 *	[%]
MONO	0.79 *	[10 ³ /uL]	8.7 *	[%]
EO	0.12	[10 ³ /uL]	1.3	[%]
BASO	0.05	[10 ³ /uL]	0.6	[%]

NRBC	0.00	[10 ³ /uL]	0.0	[/100WBC]
RET	20.1	[10 ⁹ /L]	0.37	[%]
IRF	9.8	[%]		
LFR	90.2	[%]		
MFR	8.3	[%]		
HFR	1.5	[%]		

RET-He	18.8	[pg]		
IG	0.02	[10 ³ /uL]	0.2	[%]

Action Message.

Message(s) GB

Message(s) GR/RET

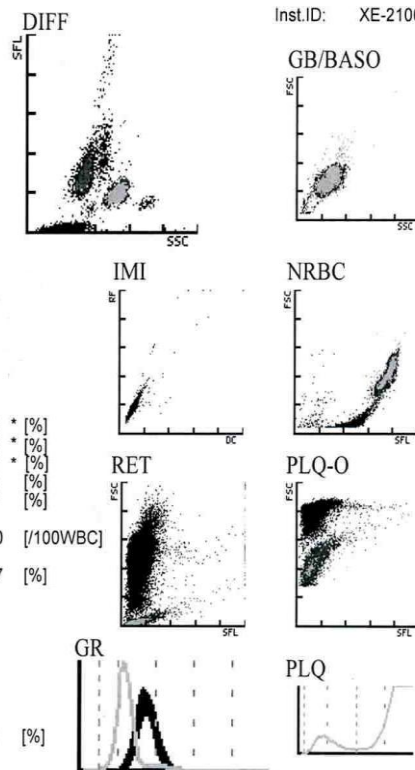
Message(s) PLQ

Dist. PLQ anorm.

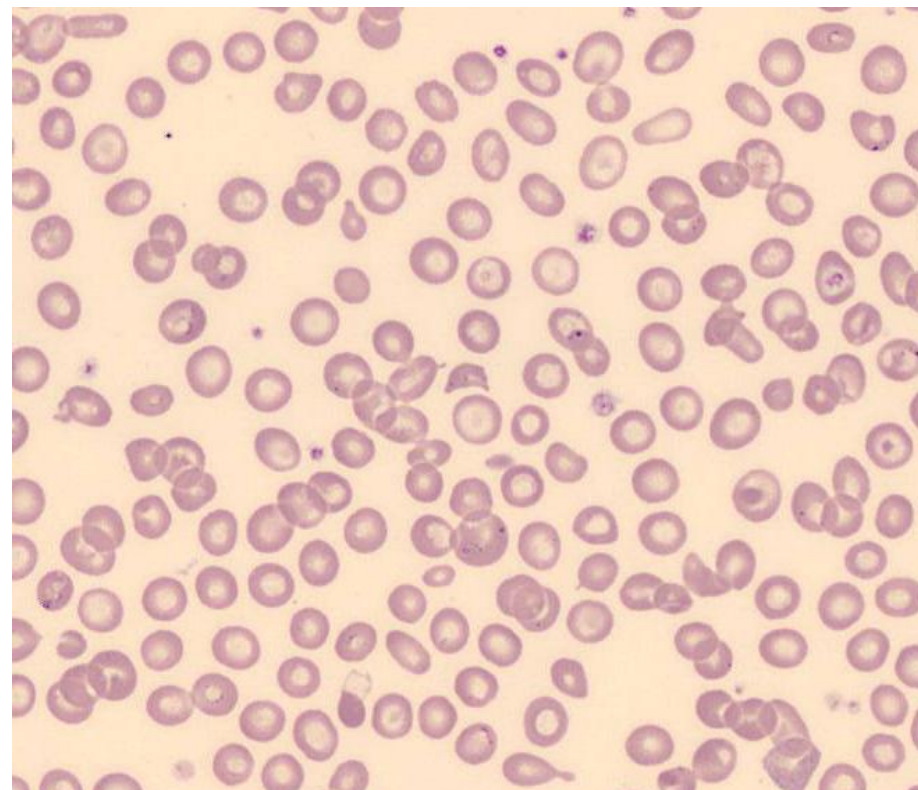
Lympho Aty.?

Fragments?

Inst.ID: XE-2100



- Polyglobulie microcytaire
- Quelques hématies cibles, microcytes rares dacryocytes et elliptocytes



Hématies

Elliptocytose Hériditaire

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Négatif

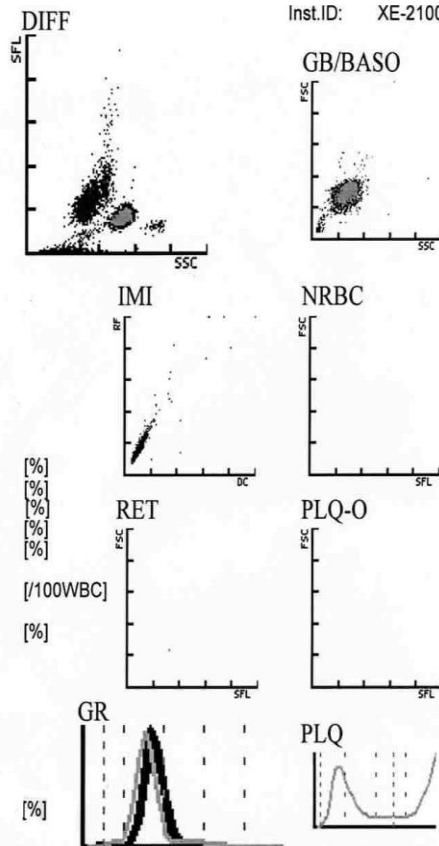
GB	6.51	[10 ³ /uL]		
GR	4.87	[10 ⁶ /uL]		
HGB	11.9	[g/dL]		
HCT	37.6	[%]		
VGM	77.2	[fL]		
TCMH	24.4	[pg]		
CCMH	31.6	[g/dL]		
IDR-SD	42.6	[fL]		
IDR-CV	14.9	[%]		
PLQ	371	[10 ³ /uL]		
VPM	11.2	[fL]		
NEUT	2.51	[10 ³ /uL]	38.5	[%]
LYMPH	3.27	[10 ³ /uL]	50.2	[%]
MONO	0.63	[10 ³ /uL]	9.7	[%]
EO	0.09	[10 ³ /uL]	1.4	[%]
BASO	0.01	[10 ³ /uL]	0.2	[%]
NRBC		[10 ³ /uL]		[/100WBC]
RET		[10 ⁹ /L]		[%]
IRF		[%]		
LFR		[%]		
MFR		[%]		
HFR		[%]		
RET-He		[pg]		
IG	0.01	[10 ³ /uL]	0.2	[%]

Action Message.

Message(s) GB

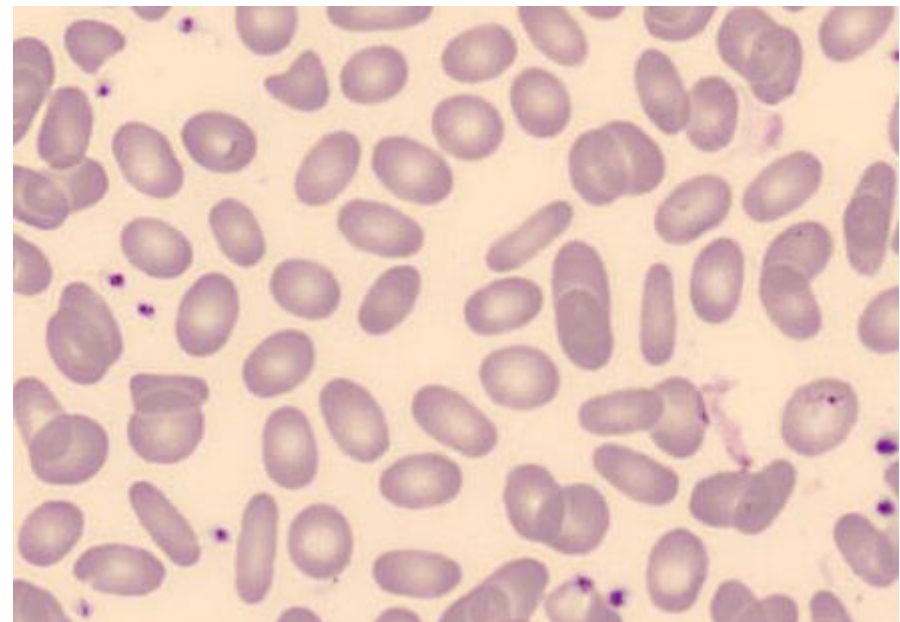
Message(s) GR/RET

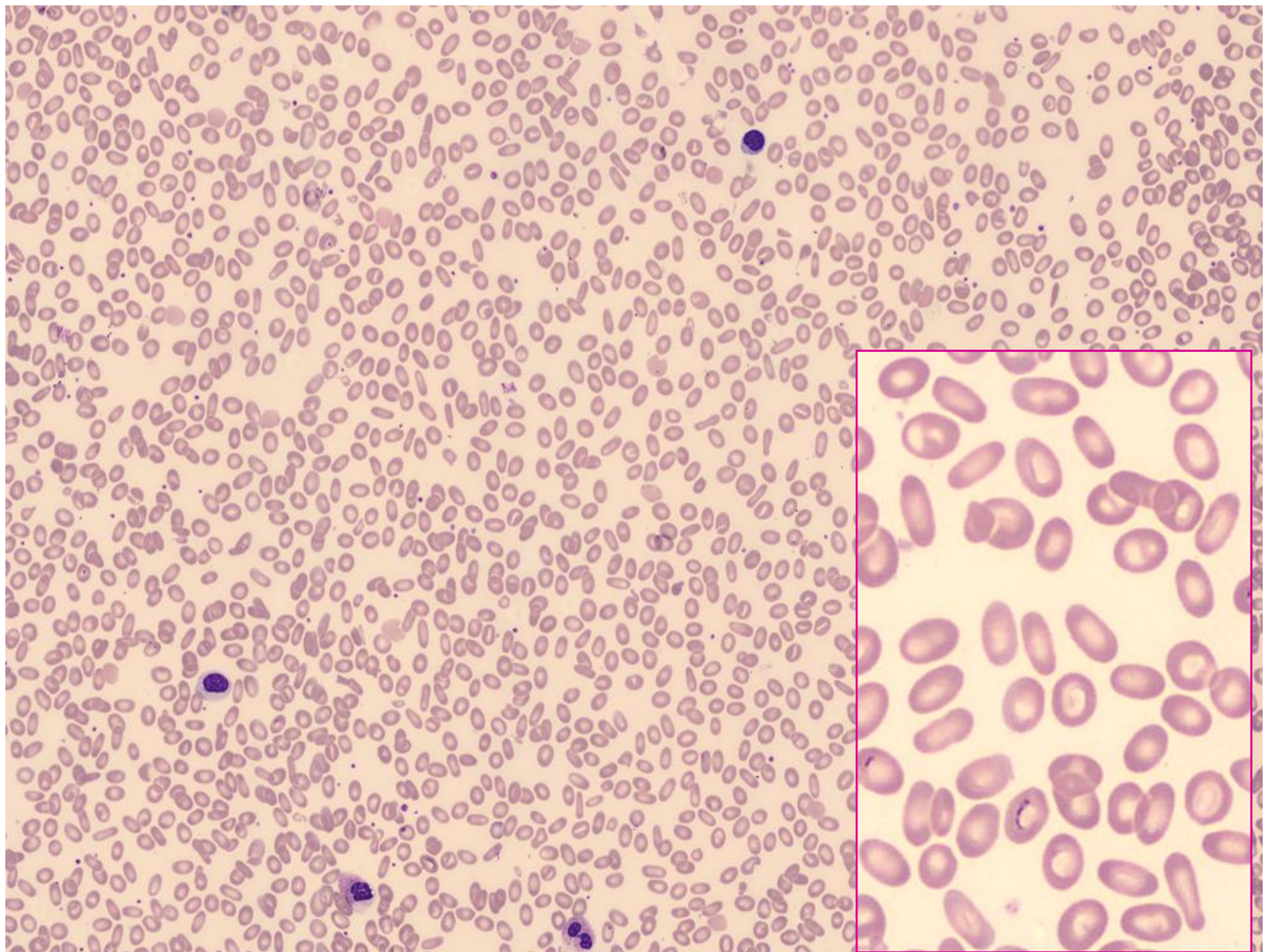
Message(s) PLQ



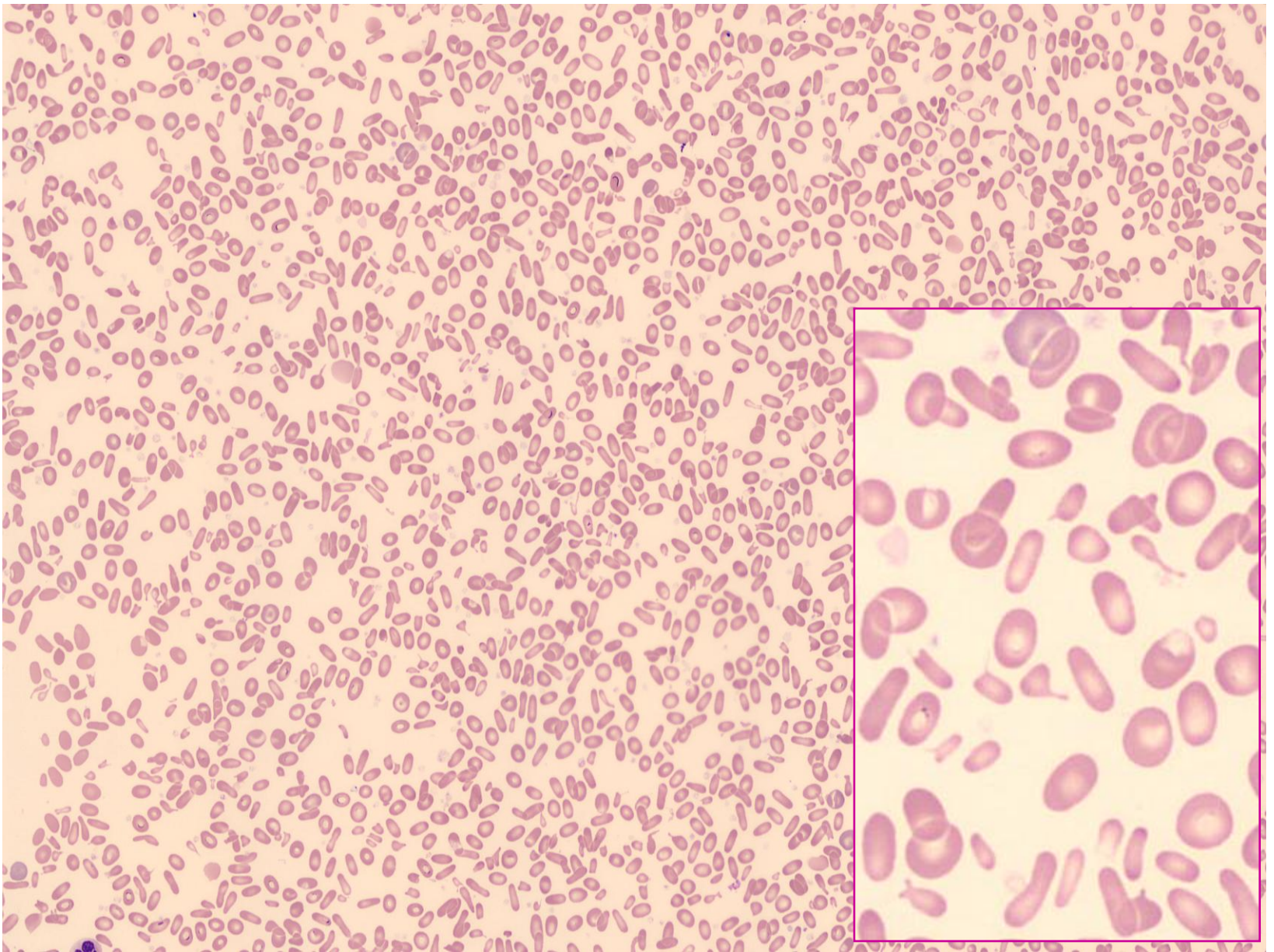
- Elliptocytose héréditaire (plus de 30%)
- Sans fragmentation
- Sans retentissement clinique

Aucune alarme de l'analyseur





Elliptocytose



Elliptocytose avec fragmentation

Hématies

Syndrôme Hémolytique et Urémique SHU

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB	13.72	[10 ³ /uL]
GR	2.62	[10 ⁶ /uL]
PLQ	7.0	[g/dL]
HCT	19.9	[%]
VGM	76.0	[fL]
TCMH	26.7	[pg]
CCMH	35.2	[g/dL]
IDR-SD	45.3	[fL]
IDR-CV	17.5	[%]
PLQ &	71	[10 ³ /uL]
VPM	----	[fL]

NEUT	9.62 *	[10 ³ /uL]	70.1 *	[%]
LYMPH	2.14 *	[10 ³ /uL]	15.6 *	[%]
MONO	1.47 *	[10 ³ /uL]	10.7 *	[%]
EO	0.42	[10 ³ /uL]	3.1	[%]
BASO	0.07	[10 ³ /uL]	0.5	[%]
NRBC	0.00	[10 ³ /uL]	0.0	[/100WBC]
RET	81.5	[10 ⁹ /L]	3.11	[%]
IRF	31.4	[%]		
LFR	68.6	[%]		
MFR	18.8	[%]		
HFR	12.6	[%]		
RET-He	32.6	[pg]		

IG	0.57	[10 ³ /uL]	4.2	[%]
----	------	-----------------------	-----	-----

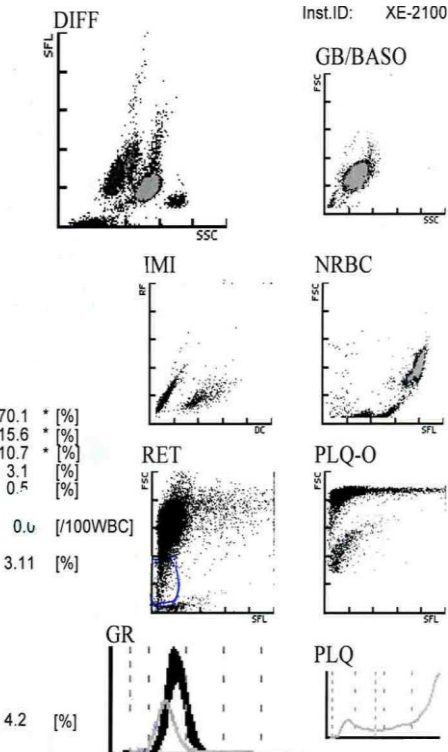
Action Message.

Message(s) GB

Présence IG

Lympho Aty.?

Anor. Lymph./L-BI?

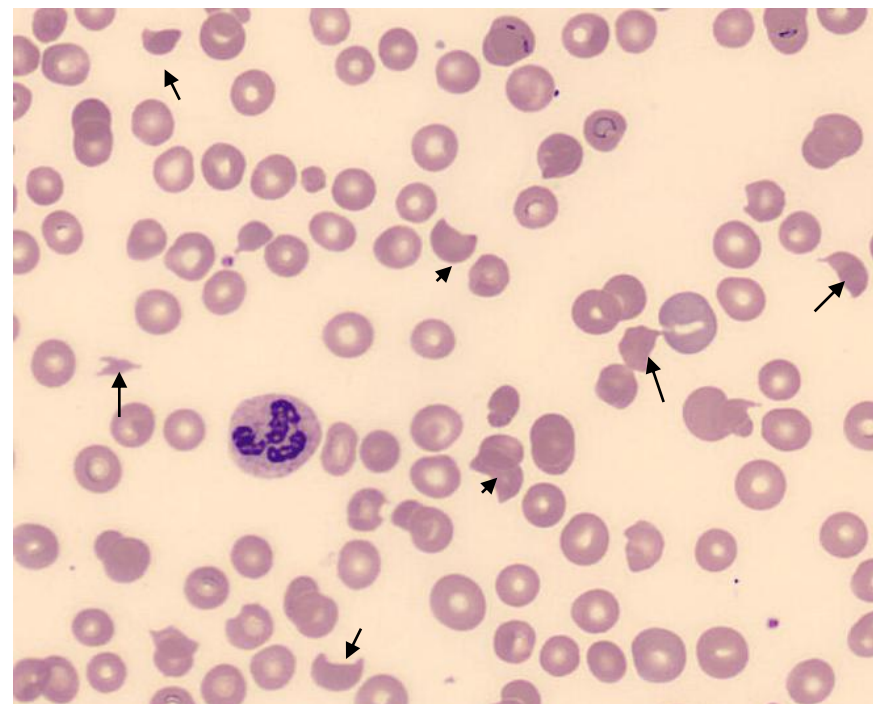


Inst.ID: XE-2100

- SHU infection à *Escherichia coli*
- Schizocytes, hématies fracturées

-Pas d'alarme « fragments » du XE2100

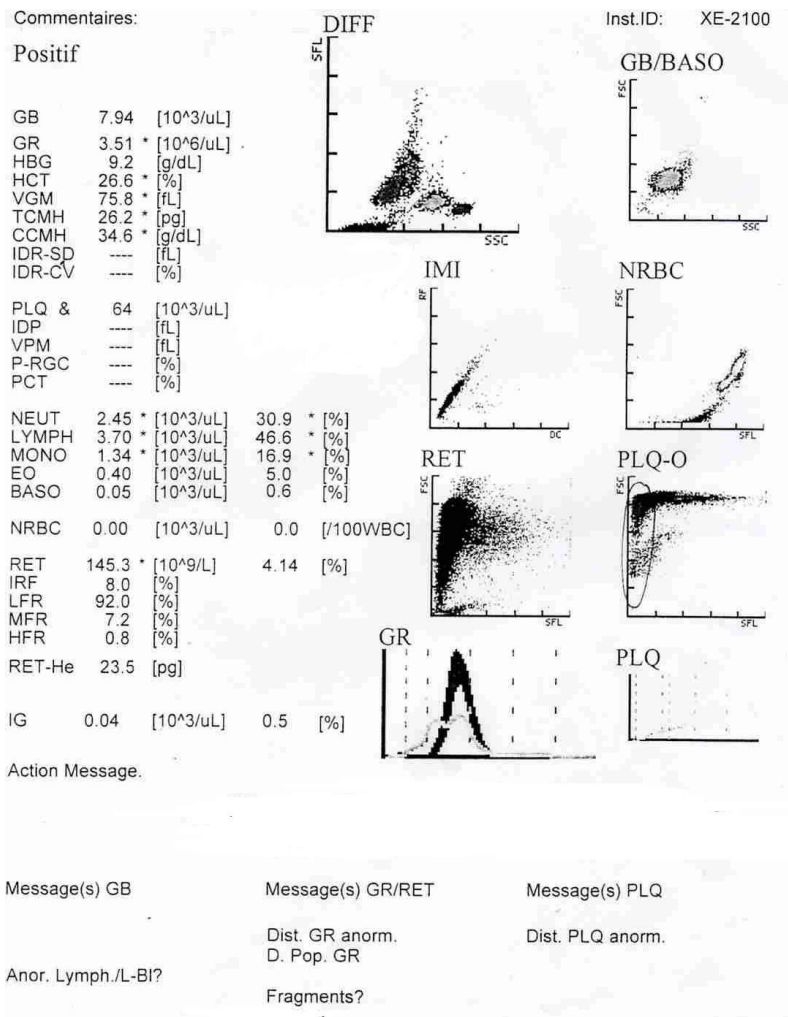
↳ présence de 3.5% de schizocytes



Hématies

Syndrome Hémolytique et Urémique SHU et interférence

- TAILLE
- TEINTE
- FORME



-Interférence des hématies fracturées de petite taille sur le graph des PLQ-O, ce qui surestime le chiffre de PLQ.

-Pas d'alarme Scatter Plq Anorm

↪ Décompte des plaquettes en cellule de Malassez → 35000/mm³

Hématies

Déficit en G6PD

(crise hémolytique)

TAILLE

TEINTE

FORME

Commentaires:

Positif

GB &	16.48	[10 ³ /uL]		
GR	2.64	[10 ⁶ /uL]		
HBG	7.0	[g/dL]		
HCT	20.8	[%]		
VGM	78.8	[fL]		
TCMH	26.5	[pg]		
CCMH	33.7	[g/dL]		
IDR-SD	41.6	[fL]		
IDR-CV	18.0	[%]		
PLQ	483	[10 ³ /uL]		
VPM	8.6	[fL]		
NEUT	4.67 *	[10 ³ /uL]	28.3 *	[%]
LYMPH	10.33 *	[10 ³ /uL]	62.7 *	[%]
MONO	1.33 *	[10 ³ /uL]	8.1 *	[%]
EO	0.09	[10 ³ /uL]	0.5	[%]
BASO	0.06	[10 ³ /uL]	0.4	[%]
NRBC	0.21	[10 ³ /uL]	1.2	[/100WBC]
RET	207.0	[10 ⁹ /L]	7.84	[%]
IRF	49.5	[%]		
LFR	50.5	[%]		
MFR	24.9	[%]		
HFR	24.6	[%]		
RET-He	27.7	[pg]		
IG	0.07	[10 ³ /uL]	0.4	[%]

Action Message.

Message(s) GB

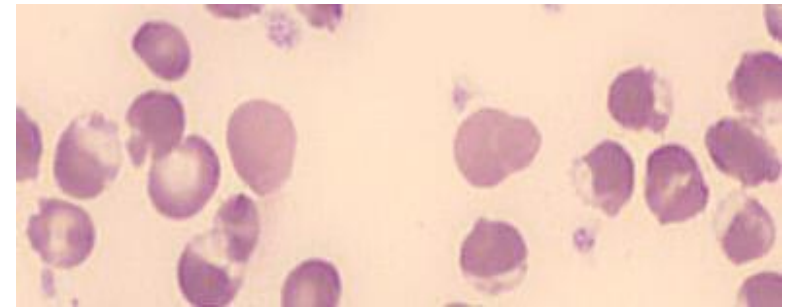
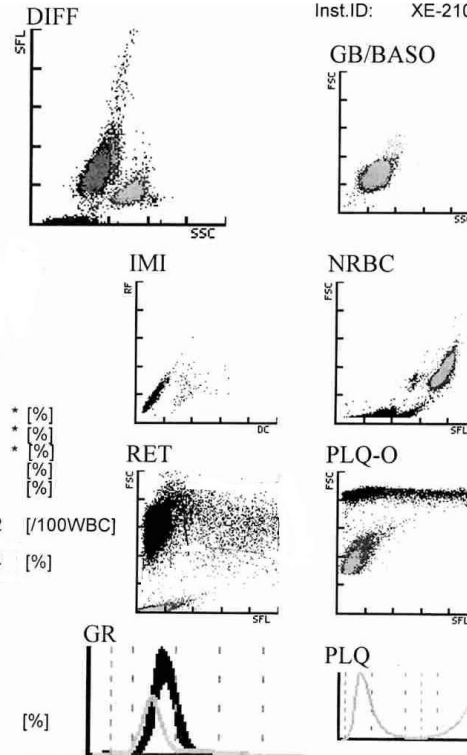
Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

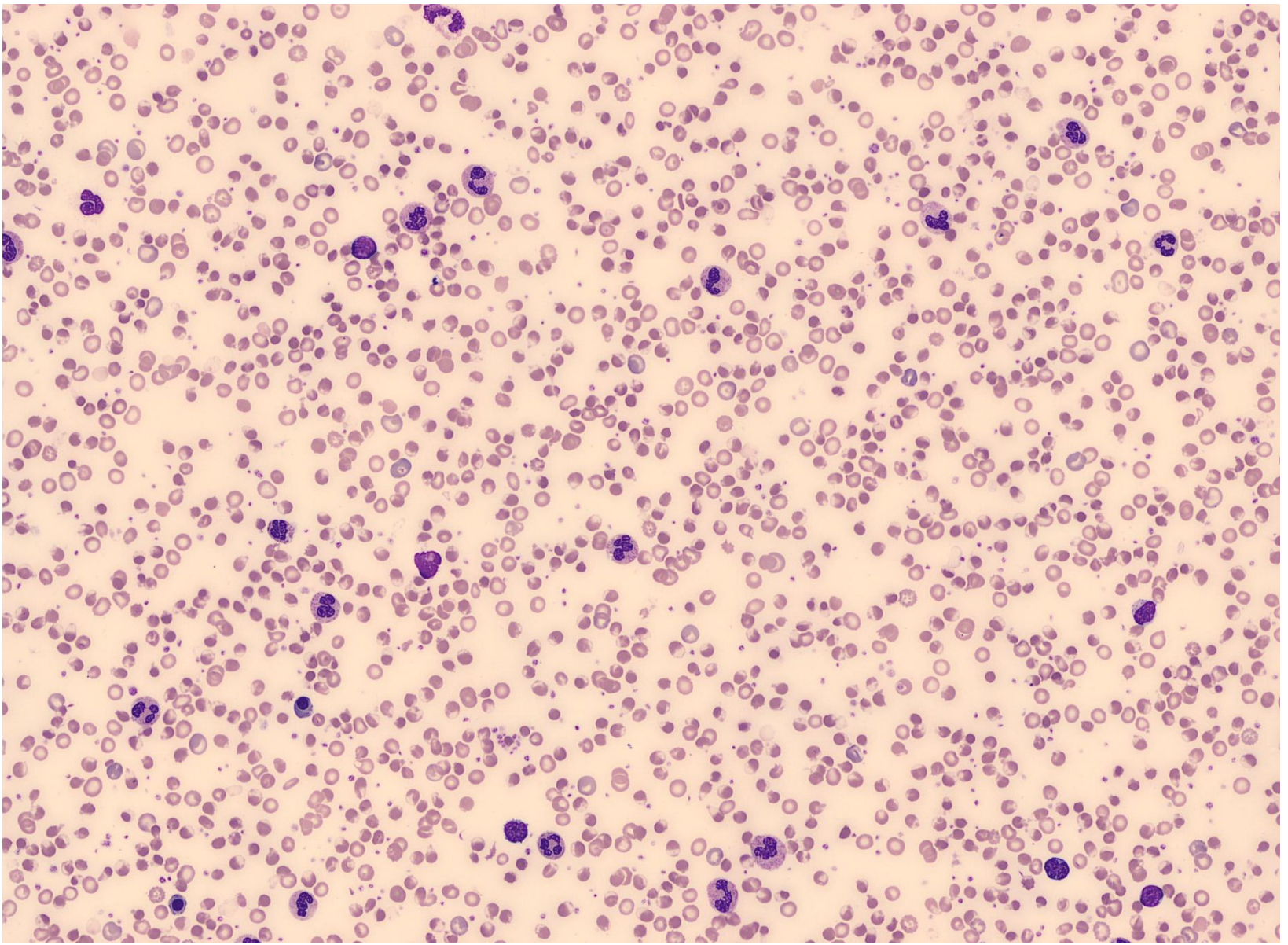
Anisocytose

Lympho Aty.?
Anor. Lymph./L-BI?

Inst.ID: XE-2100



- Anémie hémolytique régénérative
- Hemighost



Déficit en G-6 PD → Hemighosts

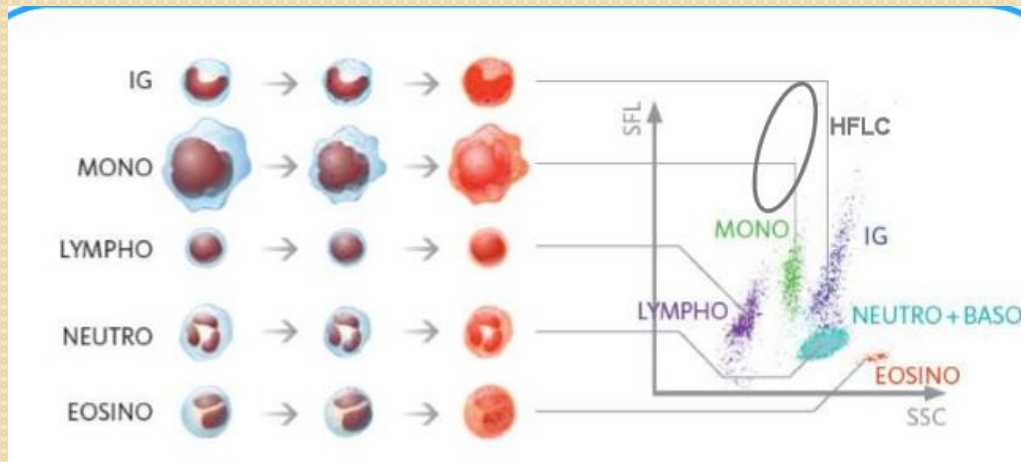
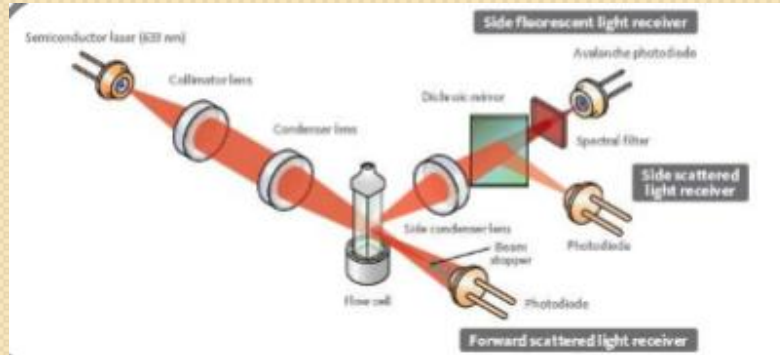
Lignée Leucocytaire



Canaux DIFF (XE/XT) et WDF (XN)

Principe d'analyse: CYTOMETRIE EN FLUX

- Nombre de GB
- Formule leucocytaire



Principe de Mesure et Différenciation Leucocytes (I) (Technologie Sysmex®)

Canaux GB/BASO (XE/XT) et WNR (XN)

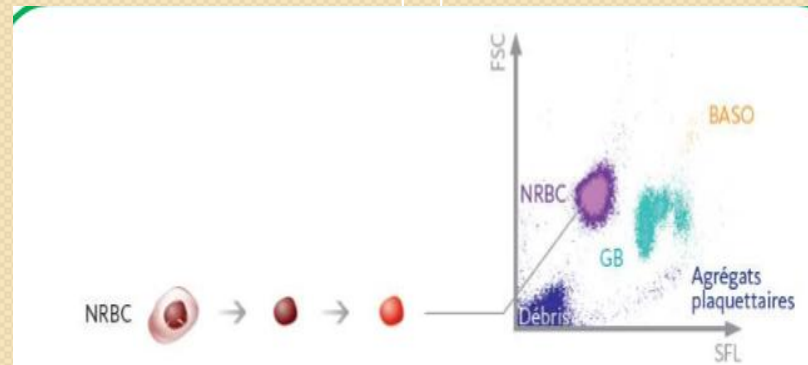
GB/BASO

- Nombre de GB total
- Polynucléaires Basophiles (% et #)

WNR

- Nombre de TNC-N
- Erythroblastes

Principe d'analyse:
CYTOMETRIE EN FLUX



**Principe de Mesure et Différenciation
Leucocytes (2)
(Technologie Sysmex®)**

Leucocytes

Alarmes Quantitatives (I)

Leucopénie: GB# < $2,5 \times 10^3/\mu\text{l}$

Leucocytose: GB# > $18,0 \times 10^3/\mu\text{l}$

Neutropénie: N# < $1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$

Neutrophilie: N# > $11,0 \times 10^3/\mu\text{l}$

Lymphopénie: L# < $0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$

Lymphocytose: L# > $4,0 \times 10^3/\mu\text{l}$

Monocytose: M# > $1,0 \times 10^3/\mu\text{l}$

Eosinophilie: E# > $0,7 \times 10^3/\mu\text{l}$

Basophilie: B# > $0,2 \times 10^3/\mu\text{l}$

Présence IG: IG% > 2%

Présence NRBC: NRBC% > 2%

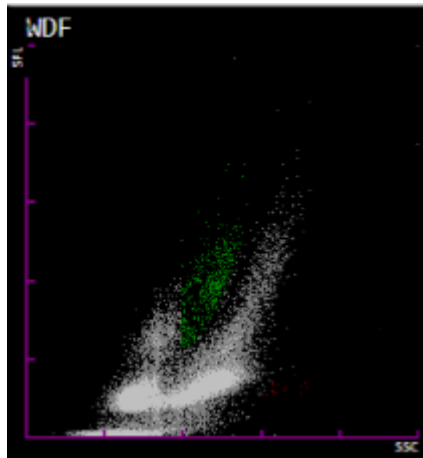
Seuils
paramétrables au
sein de l'analyseur

Seuils à définir en
fonction du
recrutement du
laboratoire

Leucocytes

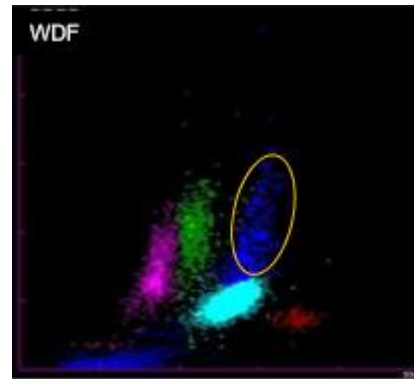
Alarmes Quantitatives (2)

Scatter GB Anormal
Qualitative



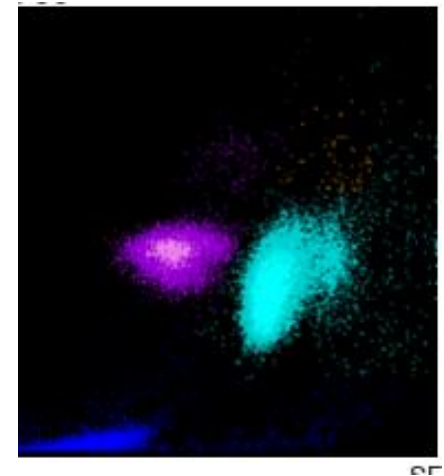
- Population non différenciée
- Aucune discrimination de GB

Présence IG



- Population au dessus des PN
- Fluorescence élevée

Présence NRBC



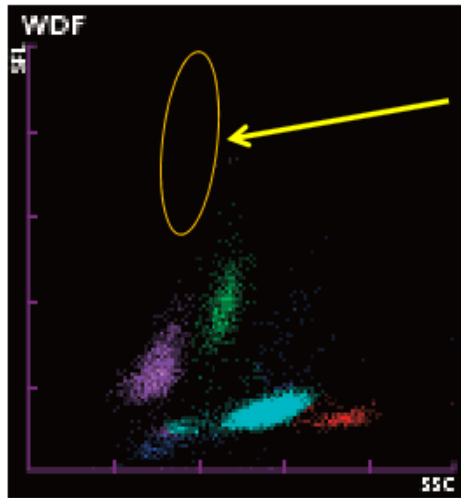
Présence
d'érythroblastes

Revue de lame

Leucocytes

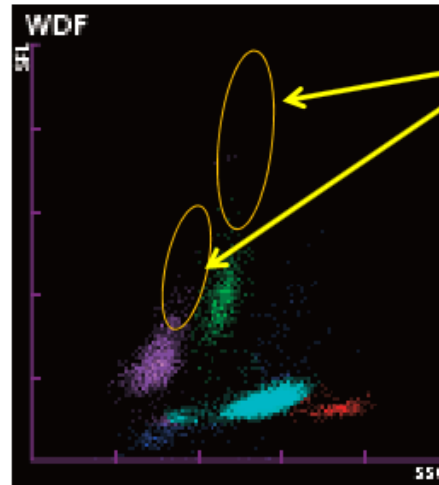
Alarmes de suspicion (qualitative)

Ly atypique ?



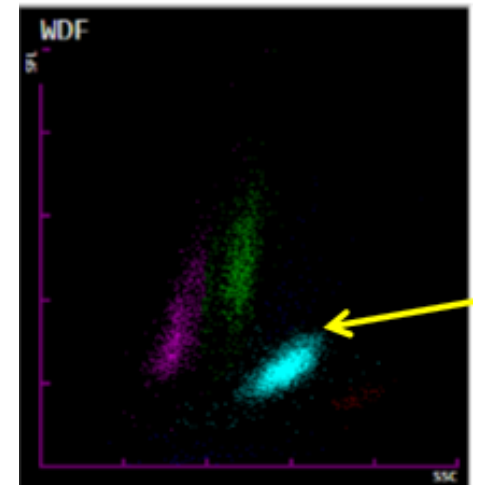
Présence d'éléments à fluorescence élevée

Blasts/Abn Lympho ?



Présence d'éléments au dessus des lymphocytes et/ou monocytes

Deviation gauche ?



Apparition de cellules au dessus des neutrophiles

Revue de lame

RDB: Revue de lame obligatoire

- Algorithmes définis par le biologiste responsable du secteur
 - Paramétrage du middleware du laboratoire qui va classer la revue de lame au microscope en différentes catégories, il tient compte du service clinique, des antériorités et de l'âge:
 - ↳ **VF**: Vérification de la formule leucocytaire qui consiste à recompter la formule au microscope
 - ↳ **VA**: Vérification de la présence d'anomalie au niveau des différentes lignées cellulaires
- Une formule est systématiquement rendu au-delà de 1 G/L de GB, dans le cas contraire aucune formule n'est rendue
- Environ 50% des lames sont revues: 35% de VF et 15% de VA

Pourquoi autant?

→ Atypical Lympho?

En pédiatrie, elle correspond aux lymphocytes réactionnels hyperbasophiles (lympho-plasmocytes principalement)

→ Blasts Abn/Lympho?

- à des lymphocytes réactionnels (cellules mononuclées hyperbasophiles principalement) couplé avec Atypical lympho dans les syndromes mononucléosique
- mais aussi à des blastes lymphoïdes ou myéloïdes (service d'hématologie clinique)

Alarme déclenchée en pédiatrie fréquemment en excès notamment pour les moins de 1 ans (liée à l'hyperlymphocytose physiologique)

RDB: Critères de revue de lame Laboratoire de Jour (I)

Formule de l'automate NON RENDU	
Services Cliniques ciblés	Hématologie clinique, hôpital de jour hématologie, consultation hématologie (OHEM) → Pour ces services, seul le biologiste valideur peut décider de rendre la formule de l'automate.
Type de prélèvement particulier	Prélèvements de sang de cordon et de sang fœtal
Anomalie de nombre	<ul style="list-style-type: none"> - Polynucléaires basophiles > 2% - Polynucléaires neutrophiles < 1G/L si non connu ou antériorité de plus de 30 jours ⇨ alarme Neutro sur le middleware - Polynucléaires éosinophiles > 2G/L - Immatures Granuleux > 3% si âge > à 17 ans (obstétrique) - Immatures Granuleux > 2% si âge < à 17 ans ⇨ alarme IG
Présence d'alarme	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » pour les patients < à 3 mois ou service HAD - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » avec un chiffre de plaquettes < 150 G/L - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » avec un chiffre de PN < 1 G/L pour un patient > à 3 mois - Alarme « Atypical Lympho » pour les patients < 1 an - > à 3 mois - Alarme « Atypical Lympho » pour les patients < 1 an

RDB: Critères de revue de lame

Laboratoire de Jour (2)

Formules sanguines de l'automate rendue MAIS Vérification des éventuelles anomalies sur les GB, GR et PLQ au microscope optique Dans tous ces cas le message « Lame VA » apparaîtra sur le middleware	
Services Cliniques ciblés	<ul style="list-style-type: none"> - Urgences pédiatriques (OURG), lits portes (HURG), réanimation, pédiatrie générale, HAD - Neurologie : sauf si réalisation de 2 formules sanguines en antériorité
Recherches particulières	<ul style="list-style-type: none"> - Recherche de schizocytes, de corps de jolly - Recherche de parasites sanguins - Recherche de lymphocytes vacuolés, de blastes
Anomalie de nombre	<ul style="list-style-type: none"> - Polynucléaires neutrophiles < 1,5 G/L - Leucocytes < 4 G/L ou > 20 G/L - Hémoglobine < 10 g/dl - IDR CV > 18% si âge < à 17 ans - IDR CV > 22% si âge > à 17 ans - IDR SD > 55 fl si âge < à 17 ans - VGM < 70 fl - CCMH > 36.5 - Chiffre de plaquette non rendu - Plaquettes < 150 G/L - Réticulocytes > 150 G/L ⇒ Alarme « Voir GR »
Présence d'alarmes	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » si âge entre 3 mois et 1 an - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » si âge > 1 an avec plaquette > à 150 G/L - Alarme « Blasts/Abn Lympho ? » associée ou non à l'alarme « Atypical Lympho » si âge > 1 an et PN > 1 G/L sans antériorité. Si antériorité de moins de 8 jours, l'étoilage est possible.

Leucocytes

Cas I: (I)

Commentaires:

Positif

GB & 79.45 * [10³/uL]
 GR 2.03 [10⁶/uL]
 HBG 4.2 [g/dL]
 HCT 15.2 [%]
 VGM 74.9 [fL]
 TCMH 20.7 [pg]
 CCMH 27.6 [g/dL]
 IDR-SD 70.3 [fL]
 IDR-CV 34.3 [%]

PLQ & 160 * [10³/uL]
 VPM --- [fL]

NEUT --- [10³/uL] --- [%]
 LYMPH --- [10³/uL] --- [%]
 MONO --- [10³/uL] --- [%]
 EO 0.07 * [10³/uL] 0.1 * [%]
 BASO --- [10³/uL] --- [%]

NRBC 6.80 * [10³/uL] 8.6 * [100WBC]
 RET 540.2 [10⁹/L] 26.61 @[%]
 IRF 56.7 [%]
 LFR 43.3 [%]
 MFR 29.8 [%]
 HFR 26.9 [%]

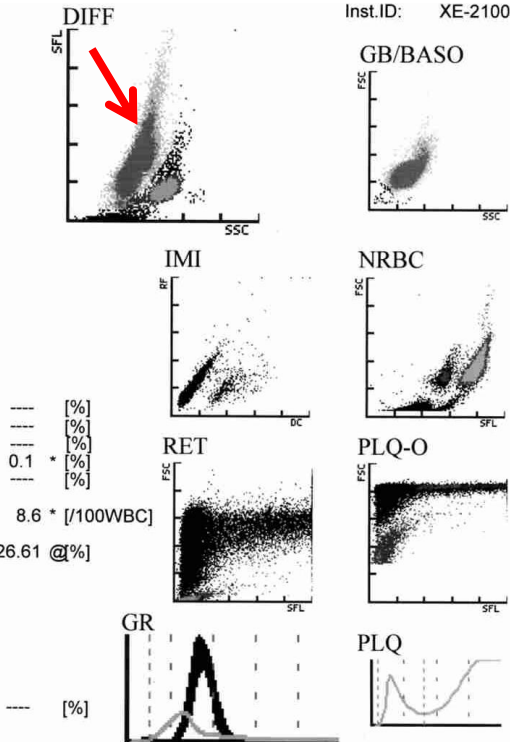
RET-He 21.3 [pg]
 IG --- [10³/uL] --- [%]

Action Message.

Message(s) GB

Scatter. GB Anorm.
 Présence NRBC

Blasts?
 Gran. Immatures?
 Dev. Gauche?
 Lympho Aty.?
 Anor. Lymph./L-BI?



HEMOGRAMME

-Hyperleucocytose

ALARMES

- Alarme Scatter GB Anorm → mauvaise Séparation des populations (DIFF)

- Alarme Blasts

- Alarme Anor. Lymph/L-BI

- Formule non rendue

Message(s) GR/RET

Anisocytose

Fragments?

Message(s) PLQ

Dist. PLQ anorm.

Agr. PLQ?

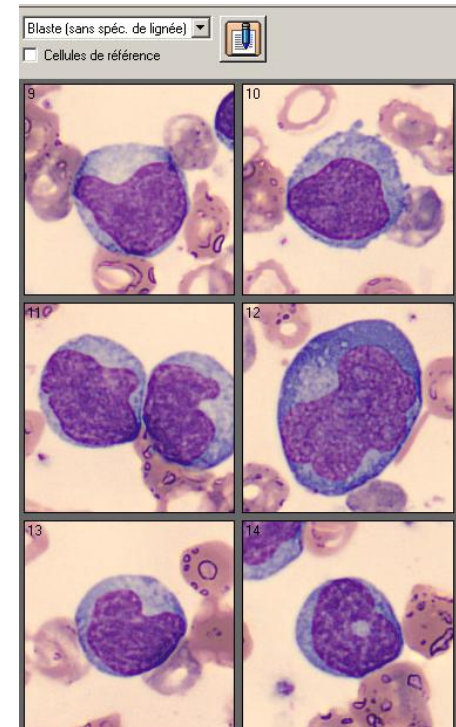
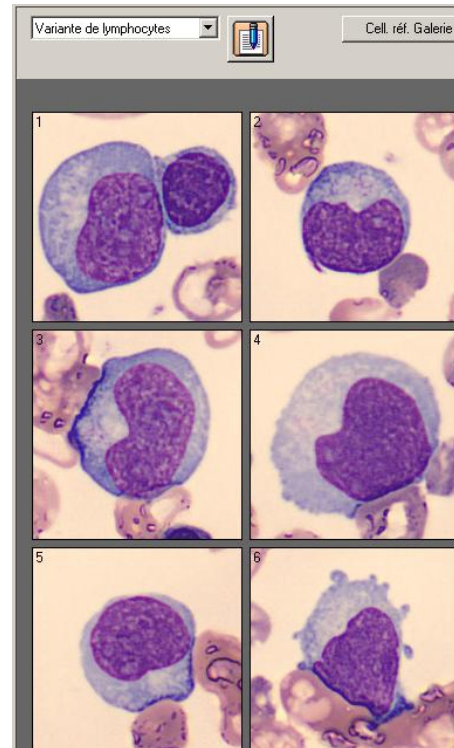
Leucocytes

Cas 1: (2)

- Sur lame: nombreuses Cellules Mononucléées Hyperbasophile (CMH)

- DM96 ↪ lymphocytes et **blastes**

MonoNucléose Infectieuse



Leucocytes

Cas 1: (1)

Commentaires:

	Erreur	Fonc.
GB &	7.53	[10 ³ /uL]
GR	3.99	[10 ⁶ /uL]
HGB	12.4	[g/dL]
HCT	36.6	[%]
VGM	91.7	[fL]
TCMH	31.1	[pg]
CCMH	33.9	[g/dL]
IDR-SD	47.0	[fL]
IDR-CV	14.0	[%]
PLQ	118	[10 ³ /uL]
VPM	10.3	[fL]

NEUT	1.60	[10 ³ /uL]	21.3	[%]
LYMPH	5.41	[10 ³ /uL]	71.8	[%]
MONO	0.29	[10 ³ /uL]	3.9	[%]
EO	0.22	[10 ³ /uL]	2.9	[%]
BASO	0.01	[10 ³ /uL]	0.1	[%]
NRBC	0.07	[10 ³ /uL]	1.0	[/100WBC]
RET	49.1	[10 ⁹ /L]	1.23	[%]
IRF	16.6	[%]		
LFR	83.4	[%]		
MFR	12.7	[%]		
HFR	3.9	[%]		
RET-He	33.1	[pg]		

IG	0.02	[10 ³ /uL]	0.3	[%]
----	------	-----------------------	-----	-----

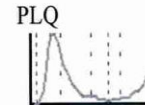
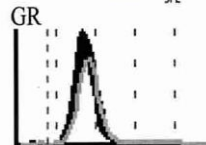
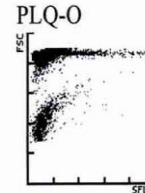
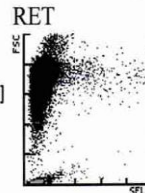
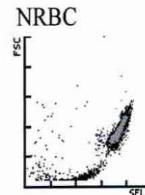
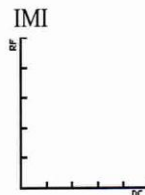
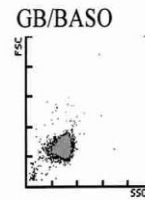
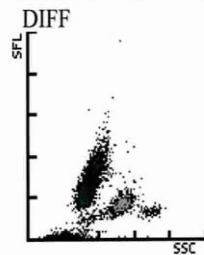
Action Message.

Message(s) GB

Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

Inst.ID: XE-2100



HEMOGRAMME

- Hémogramme normal
- Hormis une thrombopénie modérée

ALARME

Pas d'alarme

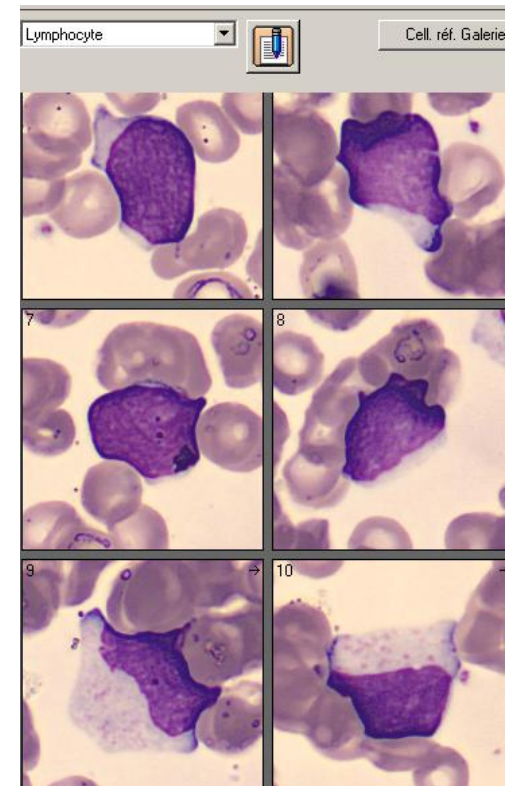
- A noter: Le nuage des lymphocytes très allongé est **anormal**

Leucocytes

Cas 2: (2)

- Sur lame: présence de blastes lymphoïdes
- Ces blastes ont été comptés en lymphocytes par l'analyseur
- Le DM96 sous estime les blastes puisqu'il en classe une partie en lymphocytes

**Leucémie Aigue
Lymphoïde**



Leucocytes Cas 3: (I)

Commentaires:

Positif

GB 416.60 * [10³/uL]
 GR 2.28 [10⁶/uL]
 HBG 6.0 [g/dL]
 HCT 18.8 [%]
 VGM 82.5 [fL]
 TCMH 26.3 [pg]
 CCMH 31.9 [g/dL]
 IDR-SD 72.9 [fL]
 IDR-CV 24.5 [%]

PLQ 77 * [10³/uL]
 VPM 10.3 * [fL]

NEUT ---- [10³/uL] ---- [%]
 LYMPH ---- [10³/uL] ---- [%]
 MONO ---- [10³/uL] ---- [%]
 EO 0.42 * [10³/uL] 0.1 * [%]
 BASO ---- [10³/uL] ---- [%]

NRBC 0.00 * [10³/uL] 0.0 * [100WBC]

RET 65.7 * [10⁹/L] 2.88 * [%]
 IRF 91.1 * [%]
 LFR 8.9 * [%]
 MFR 37.8 * [%]
 HFR 53.3 * [%]

RET-He 28.0* [pg]

IG ---- [10³/uL] ---- [%]

Action Message.

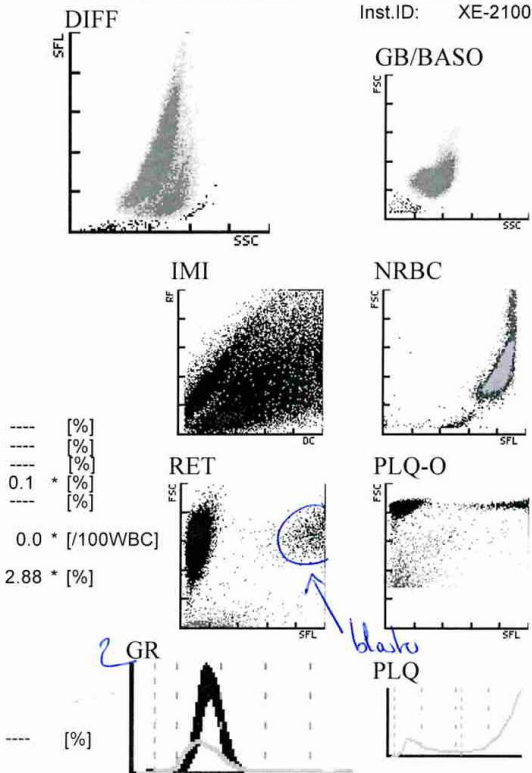
Message(s) GB

Scatter. GB Anorm.

Blasts?

Gran. Immatures?

Dev. Gauche?



HEMOGRAMME

- Hyperleucocytose
- Anémie sévère
- Thrombopénie
- Formule non rendue

ALARME

- Alarme Scatter GB Anorm
- Blasts

GRAPH

- Canal RET: population qui interfère Avec les réticulocytes (surestimation)

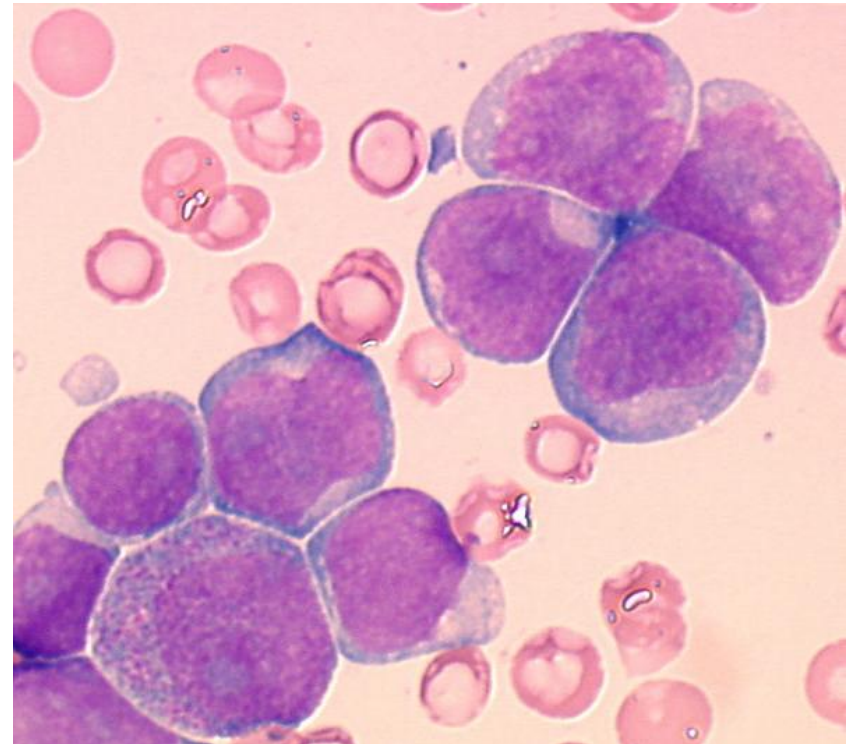
↪ Bleu cresyl

Leucocytes

Cas 3: (2)

Sur lame: présence de nombreux blastes myéloïdes

**Leucémie Aigue
Lymphoïde**



Leucocytes

Cas 4: (I)

Commentaires:

Positif

GB 14.35 * [10³/uL]
 GR 2.60 [10⁶/uL]
 HBG 7.2 [g/dL]
 HCT 22.8 [%]
 VGM 87.7 [fL]
 TCMH 27.7 [pg]
 CCMH 31.6 [g/dL]
 IDR-SD 61.5 [fL]
 IDR-CV 20.3 [%]

PLQ 27 * [10³/uL]

VPM --- [fL]

NEUT 2.82 * [10³/uL] 19.7 * [%]
 LYMPH 10.42 * [10³/uL] 72.6 * [%]
 MONO 0.98 * [10³/uL] 6.8 * [%]
 EO 0.05 * [10³/uL] 0.3 * [%]
 BASO 0.08 * [10³/uL] 0.6 * [%]

NRBC [10³/uL] [100WBC]

RET [10⁹/L] [%]

IRF [%]

LFR [%]

MFR [%]

HFR [%]

RET-He [pg]

IG 0.12 * [10³/uL] 0.8 * [%]

Action Message.

Compt. Canal RET
 Compt. Canal NRBC

Message(s) GB

Message(s) GR/RET

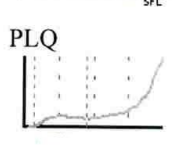
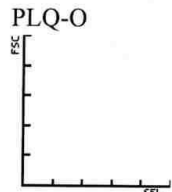
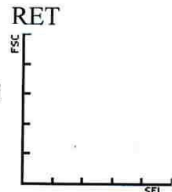
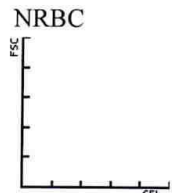
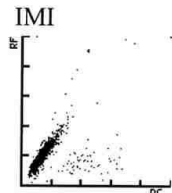
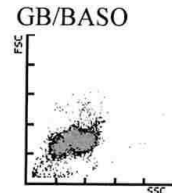
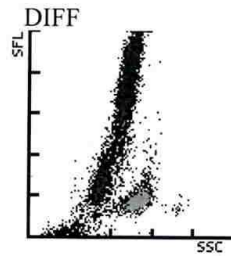
Message(s) PLQ

Anisocytose

Dist. PLQ anorm.

Blasts?
 Gran. Immatures?
 Lympho Aty.?
 Anor. Lymph./L-BI?
 NRBC?

Inst.ID: XE-2100



HEMOGRAMME

- Anémie sévère
- Thrombopénie

ALARME

- Alarme Lympho Aty
- Anor. Lymph/L-BI
- Blasts

GRAPH

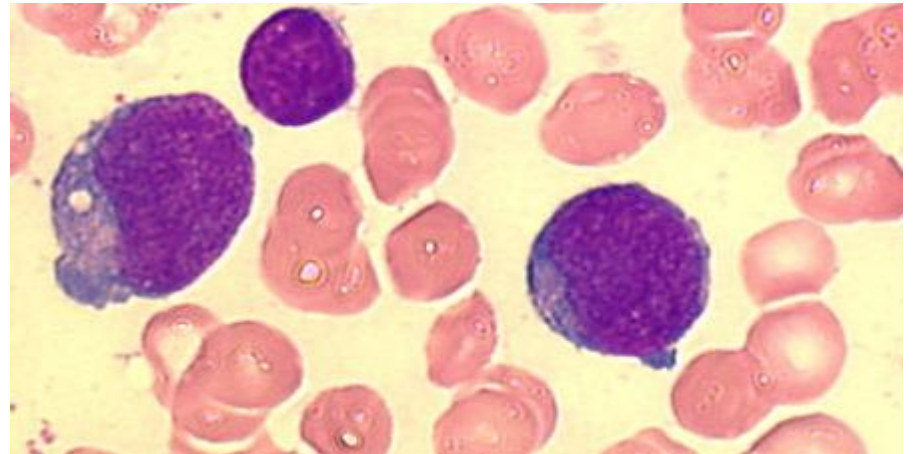
- Présence d'une population hautement fluorescente située au dessus des monocytes

Leucocytes

Cas 4: (2)

Sur lame présence de 35% blastes myéloïdes
de morphologie mégacaryoblastique

**Leucémie Aigue Myéloïde
de type LAM7**



Leucocytes

Cas 5: (I)

Commentaires:

Positif

GB & 214.67 @[10³/uL]
 GR 3.46 [10⁶/uL]
 HBG 12.9 [g/dL]
 HCT 37.8 [%]
 VGM 109.2 [fL]
 TCMH 37.3 [pg]
 CCMH 34.1 [g/dL]
 IDR-SD 85.2 [fL]
 IDR-CV 22.8 [%]

PLQ 554 * [10³/uL]
 IDP 18.9 * [fL]
 VPM 12.9 * [fL]
 P-RGC 45.1 * [%]
 PCT 0.71 * [%]

NEUT --- [10³/uL] --- [%]
 LYMPH --- [10³/uL] --- [%]
 MONO --- [10³/uL] --- [%]
 EO --- [10³/uL] --- [%]
 BASO --- [10³/uL] --- [%]

NRBC 2.72 * [10³/uL] 1.3 * [10⁶/L NRBC]

RET 52.2 [10⁹/L] 1.51 [%]
 IRF 36.0 [%]
 LFR 64.0 [%]
 MFR 16.6 [%]
 HFR 19.4 [%]

RET-He 34.7 [pg]

IG --- [10³/uL] --- [%]

Action Message.

Message(s) GB

Scatter. GB Anorm.

Blasts?

Gran. Immatures?

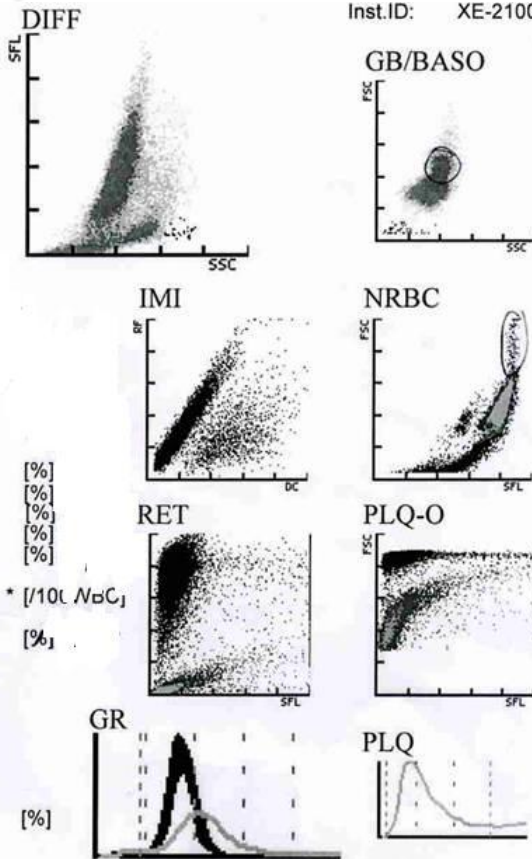
Dev. Gauche?

Message(s) GR/RET

Anisocytose

Message(s) PLQ

Agr. PLQ?



Inst.ID: XE-2100

HEMOGRAMME

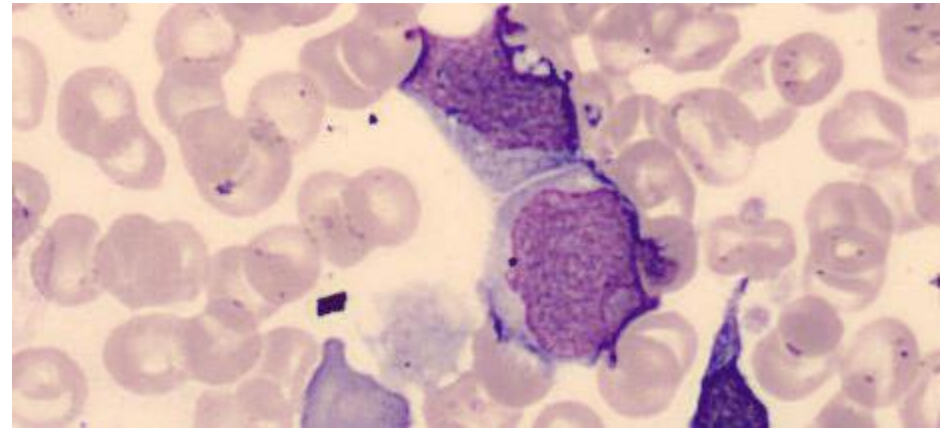
- Nouveau Né
- Hyperleucocytose avec dépassement de linéarité de l'analyseur ⇒ dilution
- Aucune formule rendue

ALARME

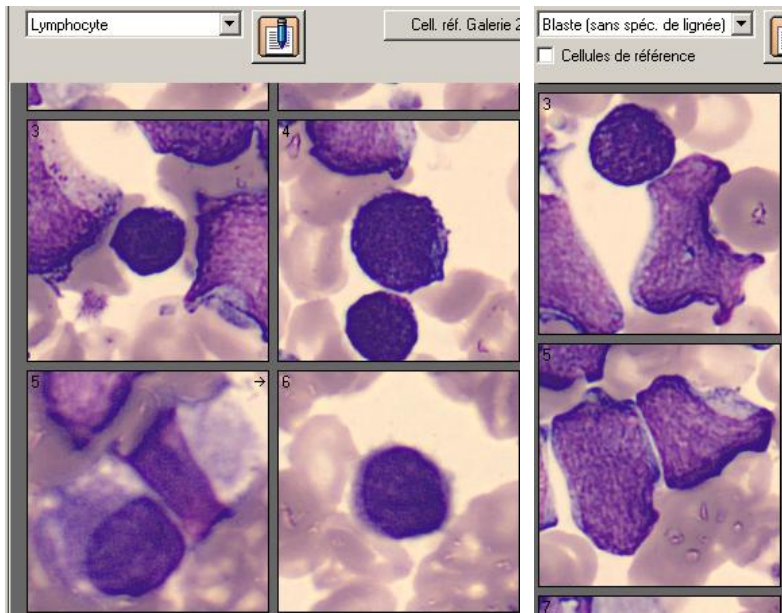
- Alarme Scatter Gb Anorm
- Alarme Blasts

Leucocytes

Cas 5: (2)



Sur lame: présence de plaquettes dysmorphiques de grande taille et dégranulées
Présence d'un pourcentage élevé de blastes de morphologie myéloïde et de quelques micromégacaryocytes



**Réaction Leucémoïde
Transitoire du Nne
Mongolien
RLT**

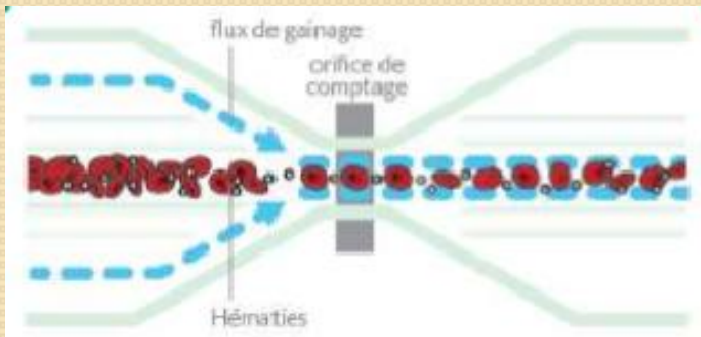
Lignée Mégacaryocytaire



Canal GR/PLQ

Principe d'analyse:

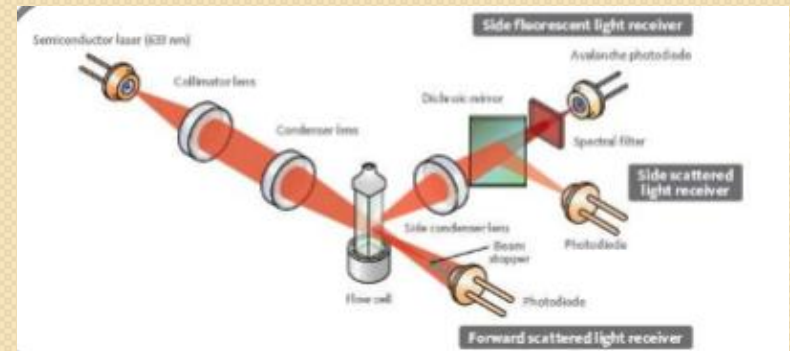
IMPEDANCEMETRIE



Canal RET

Principe d'analyse:

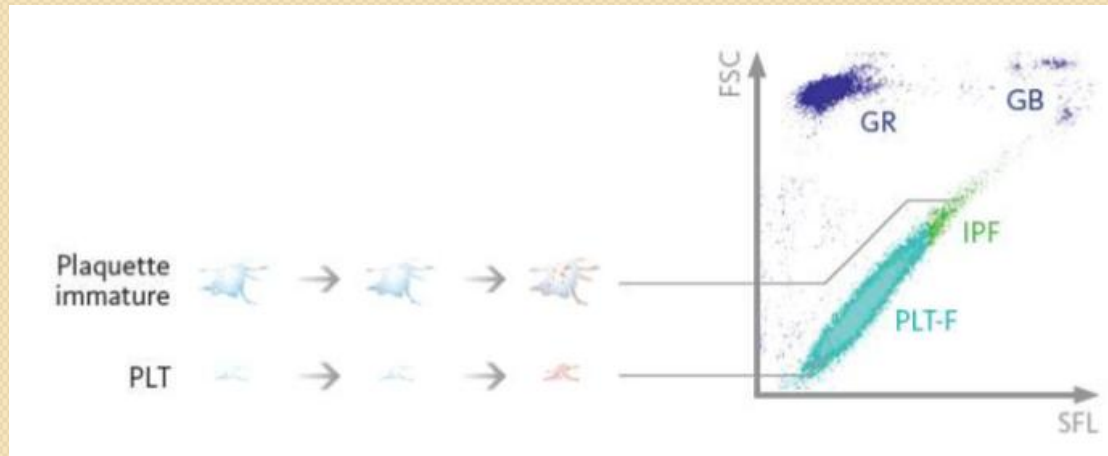
Mesure optique par CYTOMETRIE EN FLUX



**Principe de mesure – Plaquettes
(Technologie Sysmex® → XE/XT)**

Canal Fluorescence - PLTF

- La réaction est **spécifique** des plaquettes (marquage spécifique)
- **Détermination de l'IPF**: caractérisation de la thrombopénie (centrale ou Périphérique)



**Principe de mesure – Plaquettes
(Technologie Sysmex® → XN)**

Alarmes Quantitatives

- Thrombocytopénie
- Thrombocytose



Alarmes Qualitatives

- Dist. PLQ Anorm (impédance)
- Scatter PLQ Anorm (optique)
- Aggreg PLQ? (suspicion d'agrégats Plaquettaire)

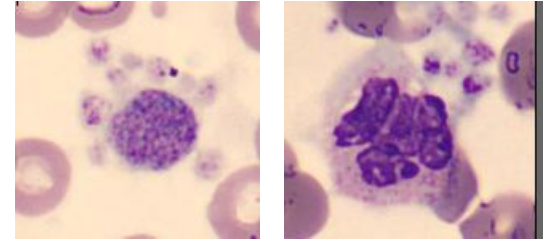
Paquettes



En cas de thrombopénie?

Devant une thrombopénie:

- Patient est il connu ou pas? → Antériorité
- Présence ou non d'un caillot dans le tube
- Vérification de l'anticoagulant
- Si l'ensemble de ces investigations n'explique pas la thrombopénie:



- ↪ Colorer un frottis sanguin au MGG
- ↪ Rechercher la présence éventuelle d'amas de plaquette et/ou fibrine
- ↪ Présence éventuelle d'anomalie sur la lignée plaquettaire

Devant un taux normal de plaquette avec suspicion d'agregat:

Dans tout les cas, les alarmes de suspicion d'agregat plaquettaire devront être Vérifiées afin aussi de passer à côté d'une **thrombocytose**

Plaquettes Syndrome MYH9 (I)

Commentaires:

Positif

GB	4.66	[10 ³ /uL]
GR	5.25	[10 ⁶ /uL]
HGB	16.0	[g/dL]
HCT	48.9	[%]
VGM	93.1	[fL]
TCMH	30.5	[pg]
CCMH	32.7	[g/dL]
IDR-SD	45.2	[fL]
IDR-CV	13.1	[%]

PLQ &	70	[10 ³ /uL]
VPM	---	[fL]

NEUT	2.16	[10 ³ /uL]	46.3	[%]
LYMPH	1.21	[10 ³ /uL]	26.0	[%]
MONO	0.56	[10 ³ /uL]	12.0	[%]
EO	0.68	[10 ³ /uL]	14.6	[%]
BASO	0.05	[10 ³ /uL]	1.1	[%]

NRBC 0.00 [10³/uL] 0.0 [100WBC]

RET	40.4	[10 ⁹ /L]	0.77	[%]
IRF	7.1	[%]		
LFR	92.9	[%]		
MFR	6.1	[%]		
HFR	1.0	[%]		

RET-He 34.2 [pg]

IG 0.01 [10³/uL] 0.2 [%]

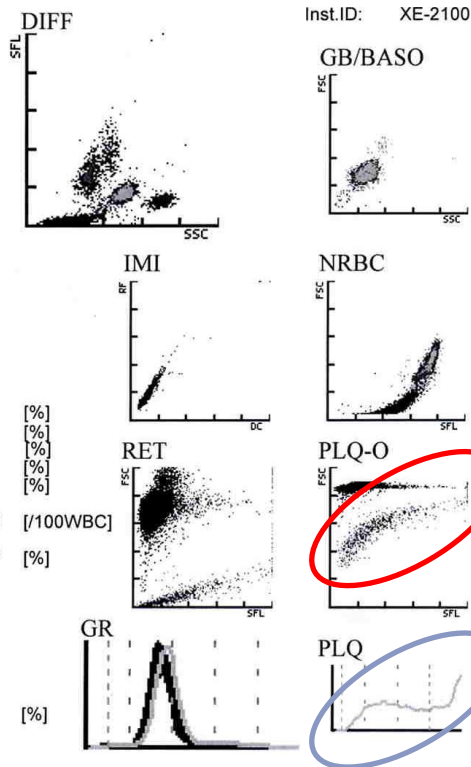
Action Message.

Message(s) GB

Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

Dist. PLQ anorm.



Inst.ID: XE-2100



HEMOGRAMME

- Thrombopénie sévère
- VMP non rendu

ALARME

- Dist. PLQ anorm

Plaquettes Syndrome MYH9 (2)

ID patient:

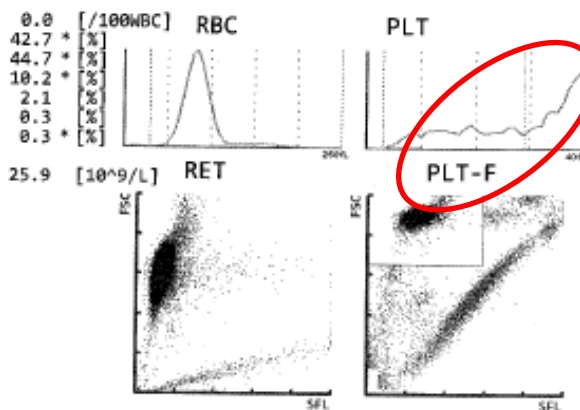
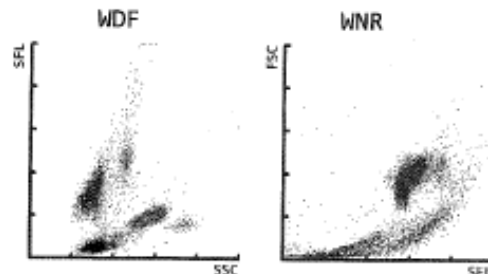
Sexe: XN-3000-1-L
Surnom:

Positive
Morph. Count

WBC	6.08	[10 ⁹ /L]
RBC	4.79	[10 ¹² /L]
HGB	12.6	[g/dL]
HCT	39.6	[%]
MCV	82.7	[fL]
MCH	26.3	[pg]
MCHC	31.8	[g/dL]
RDW-SD	44.4	[fL]
RDW-CV	14.6	[%]

PLT &F	46	[10 ⁹ /L]
MPV	----	[fL]
P-LCR	----	[%]
IPF	58.5	[%]

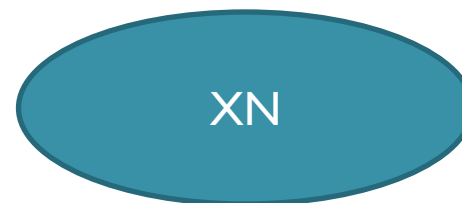
NRBC	0.00	[10 ⁹ /L]
NEUT	2.59 *	[10 ⁹ /L]
LYMPH	2.72 *	[10 ⁹ /L]
MONO	0.62 *	[10 ⁹ /L]
EO	0.13	[10 ⁹ /L]
BASO	0.02	[10 ⁹ /L]
IG	0.02 *	[10 ⁹ /L]
RET	0.54	[%]
IRF	7.3	[%]
LFR	92.7	[%]
MFR	6.6	[%]
HFR	0.7	[%]
RET-He	27.6	[pg]



NBC Message IP
Blasts/Abn Lympho?
Atypical Lympho?

RBC Message IP

PLT Message IP
PLT Abn Distribution
Thrombocytopenia



HEMOGRAMME

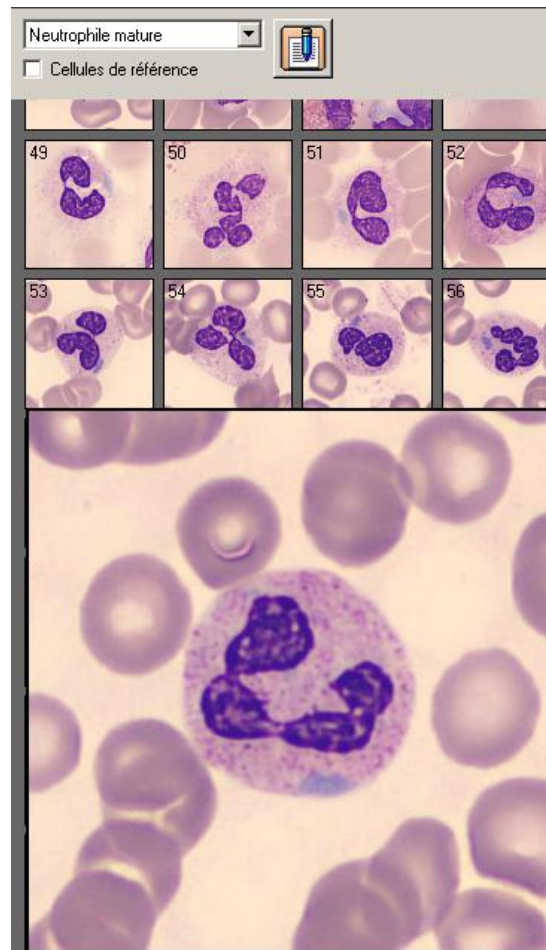
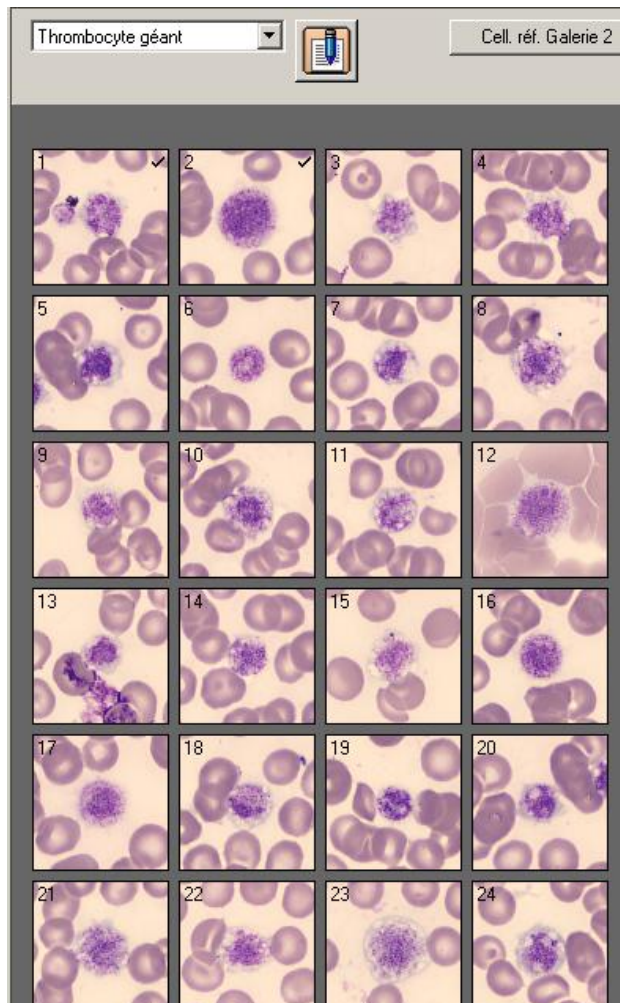
- Thrombopénie sévère
- VMP non rendu
- PLT &F sont rendues

ALARME

- Dist. PLQ anorm

Plaquettes

Syndrome MYH9 (3)



Patient atteint d'une **anomalie de May-Hegglin** caractérisée par une **macrothrombopénie** avec une ou plusieurs **inclusions basophiles** dans les polynucléaires correspondant à la myosine anormale précipitée.

Plaquettes

Syndrome des plaquettes grises

Commentaires:

Positif

GB	5.20	[10 ³ /uL]
GR	4.00	[10 ⁶ /uL]
HBG	12.5	[g/dL]
HCT	34.5	[%]
VGM	86.3	[fL]
TCMH	31.3	[pg]
CCMH	36.2	[g/dL]
IDR-SD	37.7	[fL]
IDR-CV	12.0	[%]

PLQ 114 [10³/uL]

VPM 12.0 [fL]

NEUT	2.74	[10 ³ /uL]	52.6	[%]
LYMPH	1.83	[10 ³ /uL]	35.2	[%]
MONO	0.45	[10 ³ /uL]	8.7	[%]
EO	0.17	[10 ³ /uL]	3.3	[%]
BASO	0.01	[10 ³ /uL]	0.2	[%]

NRBC 0.00 [10³/uL] 0.0 [/100WBC]

RET	43.6	[10 ⁹ /L]	1.09	[%]
IRF	9.1	[%]		
LFR	90.9	[%]		
MFR	8.2	[%]		
HFR	0.9	[%]		

RET-He 34.2 [pg]

IG 0.01 [10³/uL] 0.2 [%]

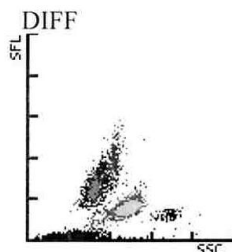
Action Message.

Message(s) GB

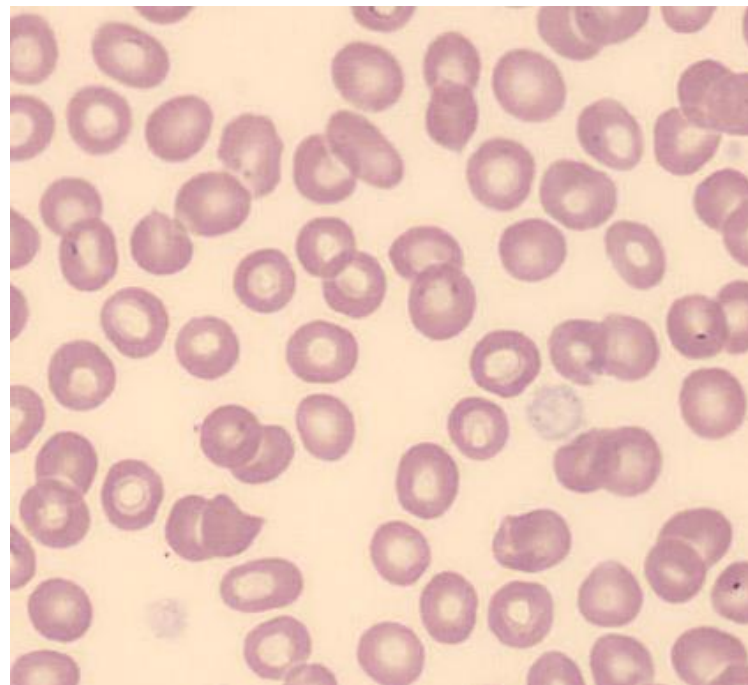
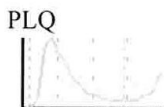
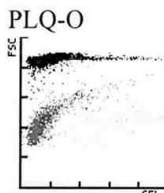
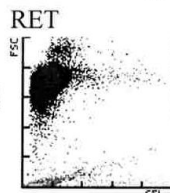
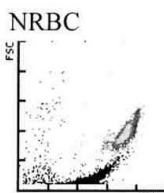
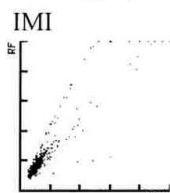
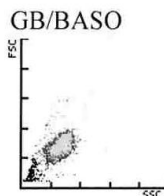
Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

Scatterg. PLQ Anorm.



Inst.ID: XE-2100



Plaquettes agranulaires,
Absence des granules alpha et
Grises sur frottis colorés au MGG.
Thrombopénie est modérée.
Attention à l'éventuelle activation du
prélèvement → dégranulation artéfactuelle
des plaquettes (Fibrine et amas)

Fausses Thrombopénies

Commentaires:

Positif

GB 5.47 [10³/uL]
 GR 4.79 [10⁶/uL]
 HBG 10.2 [g/dL]
 HCT 35.1 [%]
 VGM 73.3 [fL]
 TCMH 21.3 [pg]
 CCMH 29.1 [g/dL]
 IDR-SD 40.8 [fL]
 IDR-CV 15.4 [%]

PLQ & 138 [10³/uL]

VPM ---- [fL]

NEUT 2.07 [10³/uL] 37.9 [%]
 LYMPH 2.88 [10³/uL] 52.7 [%]
 MONO 0.39 [10³/uL] 7.1 [%]
 EO 0.10 [10³/uL] 1.8 [%]
 BASO 0.03 [10³/uL] 0.5 [%]

NRBC 0.00 [10³/uL] 0.0 [100WBC]

RET 48.4 [10⁹/L] 1.01 [%]
 IRF 15.9 [%]
 LFR 84.1 [%]
 MFR 13.0 [%]
 HFR 2.9 [%]

RET-He 22.7 [pg]

IG 0.00 [10³/uL] 0.0 [%]

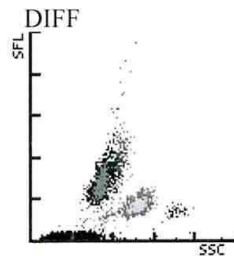
Action Message.

Message(s) GB

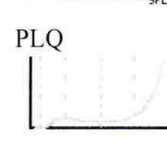
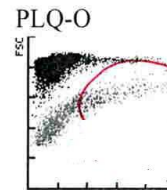
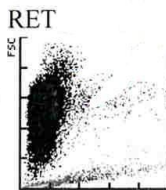
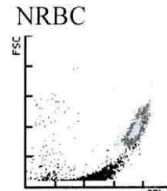
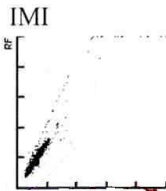
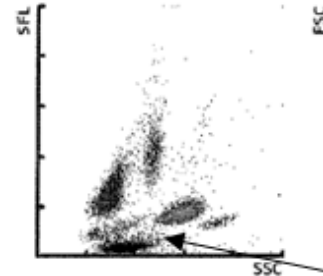
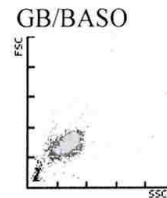
Message(s) GR/RET

Message(s) PLQ

Dist. PLQ anorm.



Inst.ID: XE-2100



• **Fausse thrombopénie :**
 Présence de fibrine et amas plaquettaires
 Élément évocateur : la remontée du bruit de fond vers la droite

• **Fausse thrombopénie :**
 Présence de petits amas plaquettaires qui n'ont pas déclenché d'alarme agrégats plaquettaires et qui ont été comptés en plaquettes de grande taille dans le canal optique et ne donne pas un aspect habituel de distribution plaquettaire .
 Amas visible dans le frottis

Conclusion



Limites des analyseurs...

En pédiatrie, les analyseurs ont des difficultés à identifier et/ou à séparer les différentes populations sanguines en particulier les leucocytes

↳ Déclenchent des alarmes souvent par excès

A l'inverse, ils peuvent nous faire passer à côté de pathologies en n'émettant aucune alarme.

Cependant l'analyse de l'hémogramme, la maîtrise des scattergrammes, notre expérience mais aussi la réalisation d'étude sur site par rapport à notre recrutement, nous permettent de définir des algorithmes afin que la revue de lame soit la plus pertinente possible.

De plus la remontée de ces limites auprès du fournisseur lui-même est nécessaire pour l'amélioration futur de la prise en charge des patients.

Quel avenir pour les microscopes optiques?

Le développement des microscopes automatisés « menace » t-il les microscopes optique?

En ce qui concerne la pédiatrie: NON... pas encore

Nécessite une standardisation dans la réalisation du frottis: pas toujours possible en pédiatrie



De notre étude il y a quelques années avec le DM96:

- Confortable pour détecter rapidement les anomalies des globules rouges et des plaquettes
- Confusion entre les lymphocytes et les blastes lymphoïdes
- Reclassement manuel des cellules trop important chez le nouveau né
- Pas de vision possible du bout de frottis

-Apprécié pour les recherches spécifiques d'anomalies comme les recherches de maladies de surcharge

Sources



Documentations Sysmex®

- XN Présentation et principes
- Support de stages de perfectionnement analyseurs: XE/XT et XN

Documentations internes – Laboratoire d'hématologie biologique de RDB

- Documents de formation interne
- Procédures internes
- Présentation du Dr Odile Fenneteau – Biologiste responsable du secteur de cytologie du laboratoire

Fonctionnement du DI

<https://www.youtube.com/watch?v=dP-FEjszyl8>



**MERCI DE VOTRE
ATTENTION...**