



Détection des érythroblastes à l'aide d'un analyseur automatique d'hématologie

Formule de correction pour le nombre total de leucocytes en cas de détection d'érythroblastes

Avec > 5 érythroblastes sur 100 leucocytes, le nombre de leucocytes doit être corrigé manuellement comme suit sur les appareils POCT (biologie délocalisée) :

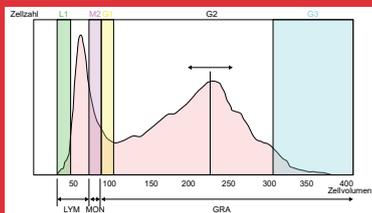
100 x gemessene Lc-Zahl (Gerät)
100 + Anzahl Ebl auf 100 Lc (Mik)

Exemple:

Le détecteur de leucocytes 5.60 g/l et les 15 érythroblastes sur 100 leucocytes (CMI) donnent un nombre corrigé de leucocytes de 4.87 g/l.

WBC-courbe de distribution:

Microsemi®

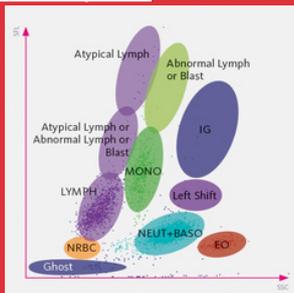


Microsemi:

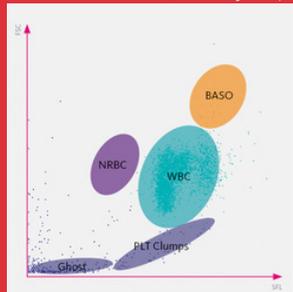
L'alerte « L1 » indique la présence anormale de petites cellules en comparaison aux lymphocytes dans une plage de 30 fl à 70 fl. Cela peut être des agrégats plaquettaires, des érythroblastes ou des lymphocytes anormaux.

(Source : Manuel Microsemi)

Série XN Sysmex®



Position des NRBC dans le diagramme de dispersion du canal WDF (canal de différenciation des leucocytes)



NRBC-Population, Lage im Scattergramm des WNR-Kanals
(Quelle: Sysmex, Measurement tech-

Introduction

Dans les cabinets médicaux, les laboratoires hospitaliers et les laboratoires sous contrat, les analyseurs automatiques d'hématologie de différentes dimensions font partie de l'équipement de base depuis des années. Les avantages de ces appareils sont si divers que les méthodes manuelles utilisées autrefois ont presque entièrement perdu de leur importance. La détection des interférences et des facteurs perturbateurs reste un défi majeur dans le domaine des analyses d'hématologie automatisées. Dans cette perspective, par l'intermédiaire de notre patient 2020-01 H3b, nous voulons comparer les possibilités des différents analyseurs permettant la détection des globules rouges nucléés, des érythroblastes (NRBC=globules rouges nucléés).

Méthode de mesure des analyseurs d'hématologie différentiels en 3 populations

Les analyseurs d'hématologie différentiels en 3 populations mesurent à partir d'un système composé de deux chambres de mesure et en utilisant différents réactifs pour compter et trier les cellules au moyen de l'impédancemétrie. Dans l'impédancemétrie, les particules sont guidées séparément à travers l'ouverture de mesure sur laquelle est appliqué le courant continu. Chaque passage de cellules provoque une impulsion électrique. En l'occurrence, chaque impulsion correspond à un événement compté et la hauteur d'impulsion est proportionnelle au volume cellulaire. La délimitation de certaines populations a lieu en utilisant des discriminateurs définis de manière fixe ou déplaçables de manière limitée comme avec les autres appareils de Sysmex.

Les alertes, les avertissements et les messages d'erreur sont générés par les algorithmes des appareils eux-mêmes générés d'une part, par les écarts des positions du discriminateur et d'autre part, par la présence ou par l'absence d'événements dans certaines barres d'histogrammes.

Les érythroblastes interfèrent en raison du noyau cellulaire dans le canal leucocyte dans la région lymphocytaire la plus basse. Ils entraînent donc des mesures faussement élevées du nombre de lymphocytes ou de leucocytes. La clarification ne peut apporter qu'une différenciation manuelle de l'hémogramme en déterminant le taux d'érythroblastes, puis en corrigeant manuellement la valeur totale des leucocytes.

Méthodes de mesure des analyseurs d'hématologie différentiels en 5 populations

Ces analyseurs d'hématologie plus complexes peuvent avoir recours à des techniques de mesure et des capacités d'évaluation supplémentaires afin de mieux détecter et de délimiter les interférences. Nos échantillons d'étude inter-laboratoire sont analysés respectivement à l'aide du XN-20 de Sysmex et du 2120 d'ADVIA. Ci-après, nous examinerons de plus près les techniques de mesure de ces deux appareils.

Série XN de Sysmex

Dans ces appareils, l'impédancemétrie pour le comptage des cellules est utilisée pour mesurer la cellule épithéliale et les plaquettes. Les leucocytes sont analysés après l'ajout d'un agent de lyse spécifique et la coloration au moyen de la fluoro-cytométrie en flux. À cet effet, les cellules passent à travers une cellule d'écoulement étroite dans laquelle la lumière d'un laser semi-conducteur (longueur d'onde 633 nm) est dirigée vers celle-ci. Ici, les cellules dispersent la lumière laser, à intensité variable, dans différents angles, en raison de leur taille cellulaire et de leur intensité de fluorescence. La lumière à diffusion vers l'avant (FSC) donne des informations sur la taille des cellules sanguines et la lumière à diffusion latérale (SFL) décrit la structure interne de la cellule (par exemple la taille du noyau). Pour la différenciation leucocyte, cette cytométrie en flux a lieu dans trois canaux différents. Les lumières diffusées mesurées sont comparées les unes aux autres en fonction du canal sur l'axe x et y dudit diagramme de dispersion (scattergram). Dans le canal WNR (canal nucléé à globules blancs), le nombre d'érythroblastes (% et nombre de NRBC,) est déterminé. La correction du nombre de leucocytes et de lymphocytes est effectuée automatiquement avant la remise des résultats. Néanmoins, il est recommandé que si plus de 5 érythroblastes/100 leucocytes sont détectés chez un patient pour la première fois, les résultats doivent être confirmés au microscope.

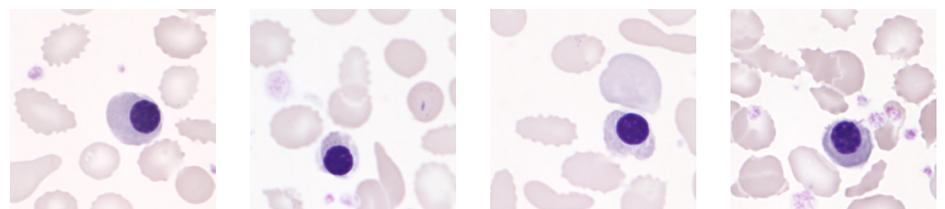


Image microscopique des érythroblastes de l'échantillon MQ 2020-1 H3B



Pertinence clinique de l'érythroblaste (NRBC) - Détection

Chez les nouveau-nés, les érythroblastes dans le sang périphérique peuvent être physiologiquement détectés dans les premières semaines de la vie. Si le nombre d'érythroblastes est supérieur à la plage de référence fixée pour les nouveau-nés, cela peut être dû, par exemple, à une carence chronique ou postnatale en oxygène, à une anémie, au diabète maternel, au stress ou même à des maladies infectieuses.

Chez les adultes, il n'y a généralement pas d'érythroblastes dans la numération sanguine périphérique. Ceux-ci peuvent apparaître, par exemple, en cas d'anémies sévères (en particulier celles avec une érythropoïèse inefficace telle que la thalassémie majeure), la leucémie et d'autres maladies systémiques hématologiques telles que les syndromes myélodysplasiques en plus grand nombre dans le sang périphérique.

En outre, diverses études décrivent la teneur en NRBC dans le sang périphérique comme un facteur pronostique en cas de greffes de cellules souches ou chez les patients se trouvant en soins intensifs. Les patients présentant des niveaux élevés de NRBC semblent avoir un taux accru de rejet de greffe ou une mortalité accrue.

Littérature

1. Da Rin, G. Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell count of five commercial hematological analyzers. *International Journal of Laboratory Hematology*, 39(6), 663-670.

Impressum

Auteur Annette Steiger
Photos Dr. Roman Fried

Conseil professionnel

C. Hviid, Dr. C. Widmer, Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie, Universitätsspital Zürich, Dr. J. Goede, Hämatologie, Kantonsspital Winterthur

© 2019 Verein für medizinische Qualitätskontrolle www.mqz.ch

2120 d'ADVIA

Deux techniques différentes sont également utilisées dans cet appareil. Dans le canal BASO, à l'exception des basophiles, le cytoplasme cellulaire est séparé. Ensuite, les leucocytes peuvent être divisés en cellules mononucléaires et polynucléaires, outre les basophiles, en raison de leur forme et de leur complexité essentielle. Dans la réaction peroxydase supplémentaire, les leucocytes sont fixés et colorés à la peroxydase. Les neutrophiles, les éosinophiles et les monocytes peuvent être colorés à la peroxydase, et les lymphocytes, les cellules basophiliques et les grandes cellules négatives à la peroxydase (LUC grandes cellules non colorées) peuvent être séparées les unes des autres dans différentes régions. Sur l'axe y, l'absorption de la lumière, proportionnelle à la teneur en peroxydase, s'affiche. Sur l'axe x, la lumière diffusée par les cellules donne des indications sur leur taille. Les érythroblastes apparaissent dans le canal BASO, dans la zone des cellules polymorphonucléaires (PMN), mais nous avons recueilli leur nombre en fonction des données du cytogramme PEROX où ils reposent dans la zone en bas à gauche en raison de leur petite taille et du manque de colorabilité à la peroxydase. Les valeurs déterminées pour NRBC (% et #NORMO) mènent automatiquement à la correction du nombre de leucocytes.

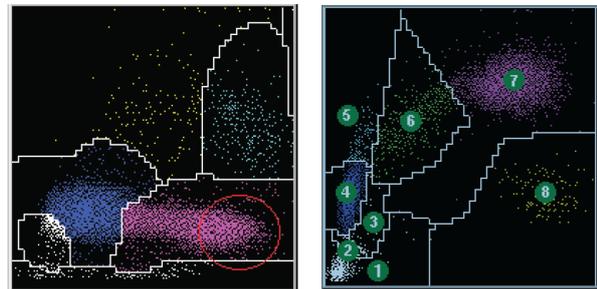
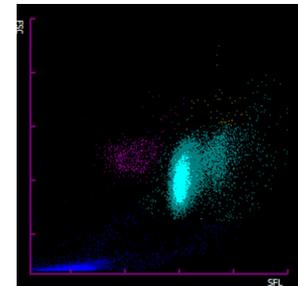
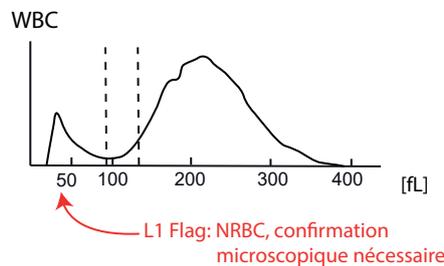


Illustration à gauche : Emplacement des NRBC (globules rouges nucléés) dans la tête de population PMN (cellules polymorphonucléaires) dans le canal BASO.

Illustration à droite : Position des NRBC dans la section 2 du cytogramme PEROX.

- 1 = Rauschen
- 2 = Erythroblasten
- 3 = Tc-Aggregate
- 4 = Lymphozyten/Basophile
- 5 = LUC- grosse ungefärbte Zellen
- 6 = Monozyten
- 7 = Neutrophile
- 8 = Eosinophile

Résultats de mesure de MQ 2020-1 H3B



Microsemi®: signalisation correcte dans le canal WDF

Sysmex XN-20: Population d'érythroblastes dans le canal WNR

Dans notre échantillon d'étude inter-laboratoire, 3 érythroblastes sur 100 leucocytes ont été trouvés de manière microscopique, ce qui correspond à une valeur absolue d'environ 0,57 g/l. En outre, on a trouvé une aniso-poikilocytose prononcée avec beaucoup d'ovalocytes, peu d'acanthocytes et de dacryocytes. Les analyseurs d'hématologie différentiels en 3 populations ont tous dans leur histogramme des globules rouges un graphique de cellule épithéliale élargie en raison de l'anisocytose. Mythic et Sysmex XP300 montrent une évidence surprenante dans la zone graphique de cellule épithéliale la plus basse qui est très probablement causée par les petites cellules épithéliales respectivement les ovalocytes. Chez Mythic, cela provoque un message FR1 pour les « microcytes » et chez Sysmex, un message d'alerte RL qui indique la fréquence anormale des événements sur le discriminateur bas de globules rouges. Seul le dispositif CRP (protéine C réactive) Microsemi affiche des messages de suspicion de NRBC en raison du graphique atypique des leucocytes dans la région lymphocyte la plus basse. Avec ces dispositifs, il serait nécessaire de déterminer le nombre de NRBC via le microscope, en corrigeant ultérieurement manuellement le nombre de leucocytes.

Concernant les analyseurs d'hématologie différentiels en 5 populations, le XN20 de Sysmex affiche une mesure de NRBC de 2.9 % ou de 0.56 g/l, et l'ADVIA 2120 n'affiche pas de NRBC. En conséquence, le nombre de leucocytes a été corrigé automatiquement. Dans notre exemple, le faible taux d'érythroblastes n'influence que minimalement le nombre total de leucocytes. Concernant les échantillons leucopéniques avec un taux élevé de NRBC, la différence entre le nombre non corrigé et corrigé de leucocytes est cependant susceptible d'être pertinente. Elle entraînerait, entre autres, une évaluation favorable erronée eu égard à la valeur absolue neutrophile (détermination d'une agranulocytose). Les différences observées lors de la sensibilité à la détection des érythroblastes sur le XN de Sysmex et les appareils d'ADVIA ont déjà été décrites par Da Rin et al 2017 dans le *International journal of laboratory hematology*. Pour XN de Sysmex et ADVIA, ils déterminent une limite de détection de >0.019 g/l respectivement >0.167 g/l.