

Formule sanguine automatisée au cabinet médical

Dr M. Stalder & Dr P.-Y. Lovey, Unité d'Hématologie, CONSILIA Sion

Les différents types d'analyseurs de formule sanguine déterminent de 8 à 23 variables relatives aux globules rouges, aux globules blancs et aux plaquettes. Hormis la mesure du taux d'hémoglobine, toutes les variables dépendent du comptage et de la mesure de la taille des cellules, qui peuvent se réaliser soit selon le principe d'impédance, soit selon le principe de cytométrie. Les automatismes ont au moins 2 canaux (des canaux supplémentaires permettent de différencier les sous-populations leucocytaires). Dans l'un, un diluant est ajouté et les globules rouges sont comptés et leur volume mesuré. Dans l'autre, un diluant et un réactif de lyse des globules rouges sont ajoutés, permettant le comptage des globules blancs et des plaquettes et la mesure du taux d'hémoglobine par photométrie.

PRINCIPE D'IMPÉDANCE

Le passage de cellules en suspension dans un liquide conducteur à travers un orifice modifie la résistance électrique entre 2 électrodes. Cette modification est enregistrée sous forme d'impulsions. Le nombre d'impulsions enregistrées correspond au nombre de cellules passant. La hauteur des impulsions est proportionnelle au volume de la cellule détectée. L'analyse volumétrique des globules blancs permet de différencier 3 sous-populations leucocytaires. L'hématocrite et les index érythrocytaires MCH et MCHC sont calculés.

PRINCIPE DE CYTOMÉTRIE

Un gainage fluïdique force les cellules leucocytaires à se présenter une à une devant une cellule de mesure qui possède des électrodes, pour l'enregistrement de variations d'impédance et de fréquences d'ondes électromagnétiques et qui s'intègre dans un banc optique dont la source lumineuse est un canon laser assurant une illumination constante des cellules. Cela permet des mesures de volume, de diffraction du rayon laser (granularité) et de conductivité d'un courant haute fréquence (composition chimique du noyau et du cytoplasme). Le traitement des trois mesures physiques permet la différenciation des sous-populations leucocytaires.

Ainsi, chaque analyseur de formule sanguine fournit des résultats chiffrés des différents paramètres et des histogrammes pour chaque population cellulaire : érythrocytes, thrombocytes et leucocytes (Figure 1).

VALIDATION DES RÉSULTATS

Les résultats de la formule sanguine obtenus par comptage automatisé sont validés si les conditions suivantes sont remplies : l'appareil fonctionne correctement, la calibration a été faite et contrôlée, les contrôles de qualité internes sont dans les intervalles cibles, les contrôles de qualité externes sont conformes, la plausibilité des résultats est adéquate. De plus, l'analyse des histogrammes et la prise en compte des messages d'erreurs donnés par l'instrument, permettent de définir s'il y a lieu de mettre en doute les résultats et de les contrôler, notamment par l'examen du frottis sanguin.

RÉSULTATS FACTICES

Certains résultats factices sont en relation avec des problèmes pré-analytiques : erreur d'identification du tube, mauvais remplissage du tube, spécimen en partie coagulé, spécimen mal mélangé. Ils peuvent également être liés à des dysfonctionnements de l'appareil : obstruction de l'aspiration, calibration inadéquate, etc..

L'utilisateur doit être particulièrement attentif à la possibilité de résultats factices liés à des caractéristiques propres à l'échantillon de sang analysé.

CAUSES DE COMPTAGE AUTOMATISÉ DES THROMBOCYTES ERRONÉ

1. *Compte faussement abaissé des thrombocytes*
 - Coagulation partielle du spécimen
 - Agrégation plaquettaire induite par EDTA
 - Satellitisme des plaquettes
 - Plaquettes géantes
2. *Compte faussement augmenté des thrombocytes*
 - Erythrocytes microcytaires ou schizocytes (cf. figure 2)
 - Fragments de leucocytes
 - Cryoglobuline

CAUSE DE COMPTAGE AUTOMATISÉ DES LEUCOCYTES ERRONÉ

1. *Compte faussement élevé des leucocytes*
 - Erythroblastes. Si le pourcentage d'érythroblastes est significatif, il faut corriger le nombre de leucocytes, en tenant compte du nombre d'érythroblastes pour 100 leucocytes évalués sur le frottis sanguin. Le nombre de leucocytes corrigés est alors égal au nombre de leucocytes comptés en $10^6/L \times 100$ sur le nombre d'érythroblastes pour 100 leucocytes + 100.
 - Plaquettes géantes en grand nombre
 - Agrégats plaquettaires
 - Cryoglobulinémie
 - Parasites ou malaria
2. *Compte faussement abaissé des leucocytes*
 - Lyse cellulaire si le sang prélevé date de plus de trois jours

CAUSE DE COMPTAGE AUTOMATISÉ DES ÉRYTHROCYTES ERRONÉ

1. *Compte faussement élevé des érythrocytes*
 - Extrême leucocytose
 - Plaquettes géantes en grand nombre
 - Plasma lipémique
 - Cryoglobulinémie
2. *Compte faussement abaissé des érythrocytes*
 - Agglutinines froides
 - Microcytose extrême ou schizocytes nombreux

CAUSE DE MESURE DU TAUX D'HÉMOGLOBINE FICTIVEMENT TROP ÉLEVÉ

Conséquence le plus souvent d'une augmentation de turbidité par :

- Leucocytose marquée (dépend des appareils et de l'efficacité de la solution lyse)
- Plasma lipémique
- Paraprotéinémie élevée
- Cryoglobulinémie

A contrôler lors de leucocytose > 100 G/L

A suspecter si MCV particulièrement ↑ ou MCHC ↑

Paramètres érythrocytaires

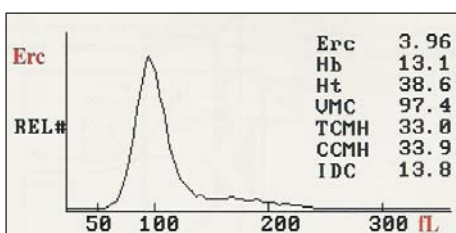
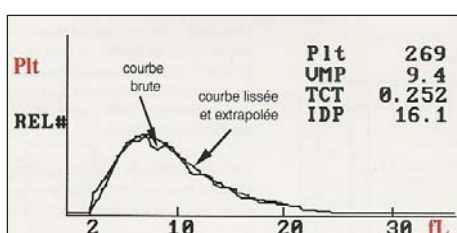


Figure 1: histogrammes

Paramètres plaquettaires



Histogramme des leucocytes

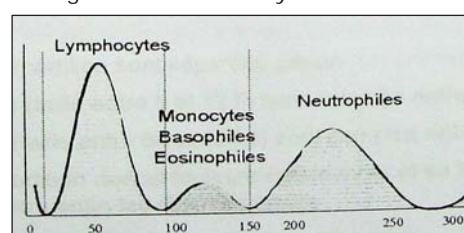
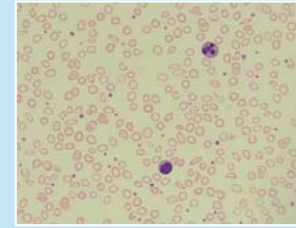
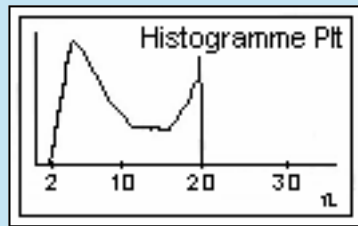
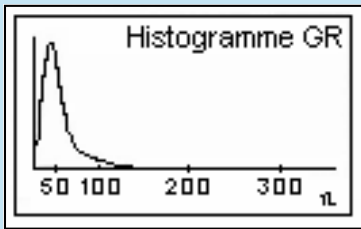


Figure 2 a



Paramètres de l'automate : Hémoglobine 82 g/L (117 - 157), hémocrite 0.284 L/L (0.35 - 0.47), **érythrocytes 5.72 T/L** (3.80 - 5.20), MCV 49.6 fL (80 - 100), MCH 14.3 pg (26 - 34), MCHC 289 g/L (310 - 360). **Thrombocytes 707 G/L** (150 - 350). Leucocytes 6.4 G/L (4 - 10).

Analyse des histogramme de l'automate : l'histogramme des érythrocytes ne débute pas à la ligne de base, histogramme très perturbé des thrombocytes avec image d'une deuxième population entre 10 et 20 fL, suggérant, étant donné la microcytose sévère des érythrocytes, une contamination du comptage des plaquettes par les microcytes.

Résultats définitifs par comptage manuel des érythrocytes, des thrombocytes et hémocrite centrifugé

Hémoglobine 82 g/L, hémocrite 0.31 L/L, **érythrocytes 6.28 T/L**, MCV 49 fL, MCH 13 pg, MCHC 265 g/L. **Thrombocytes 412 G/L**. Leucocytes 6.4 G/L.

Figure 2: comptage erroné des erythrocytes et des thrombocytes: microcytose sévère

CAUSE D'UN RÉSULTAT DE MCV ERRONÉ

1. MCV faussement élevé
 - Sang resté à température ambiante > 8 h ou > 24 h, selon instrument
 - Agglutinines froides
 - Leucocytose extrême

2. MCV faussement bas
 - Érythrocytes hypochromes
 - Augmentation température ambiante

L'analyse de la plausibilité des résultats rendus par l'automate, l'examen attentif des histogrammes et la prise en compte des messages d'erreurs ou alarmes signalés par l'automate, permettent de définir si les résultats doivent être mis en doute et contrôlés et, en particulier, si un examen du frottis sanguin s'impose.

CONCLUSION

Les automates d'hématologie permettent d'obtenir les valeurs des paramètres de la formule sanguine d'une manière rapide et fiable, dans la mesure où les conditions pré-analytiques et les règles de bonne pratique du laboratoire sont observées. A ce propos, l'exécution régulière et la documentation des contrôles de qualité internes, ainsi que la participation aux contrôles de qualité externes, jouent un rôle fondamental. Il est également nécessaire que l'utilisateur connaisse les causes potentielles de résultats erronés.

