



## Effet de l'agent lysant sur les leucocytes

Lors de la différenciation des leucocytes, les cellules sont traitées avec des réactifs de lyse. Ces réactifs provoquent la lyse des érythrocytes et le rétrécissement des plaquettes.

Cependant, les agents lysant proposés par les fabricants agissent différemment sur chaque type de cellule (sous-types leucocytaires).

Il en résulte que les cellules se placent en diverses positions dans les histogrammes des différents appareils. Pour une évaluation correcte de l'histogramme, il faut donc connaître la méthode utilisée.

La membrane cytoplasmique des leucocytes réagit à l'agent lysant par une perte de volume cytoplasmique. L'enveloppe restante rétrécit et se place plus près du noyau cellulaire. L'importance de la modification des cellules sous l'influence de l'agent lysant dépend du type cellulaire et de l'agent lysant utilisé.

En raison de cette modification cellulaire due à la lyse, la taille des différents sous-types de leucocytes ne montre pas non plus de corrélation avec la taille de la cellule telle qu'elle est perçue à l'examen microscopique.

## Modifications du volume cellulaire

Exemple de lymphocytes, monocytes et granulocytes neutrophiles.

	Volume avant l'agent lysant	Volume après l'agent lysant
Lymphocyte		
Granulocyte neutrophile		
Monocyte		

Le volume avant la lyse correspond aux tailles perçues à l'examen microscopique.

Le volume après la lyse correspond à la classification des types cellulaires dans l'histogramme de l'appareil.

## Introduction

Les automates d'hématologie de petite taille mesurent jusqu'à 18 paramètres hématologiques différents. En font partie outre le nombre de cellules, la concentration d'hémoglobine et de nombreux autres paramètres, également la différenciation en trois groupes des sous-types leucocytaires.

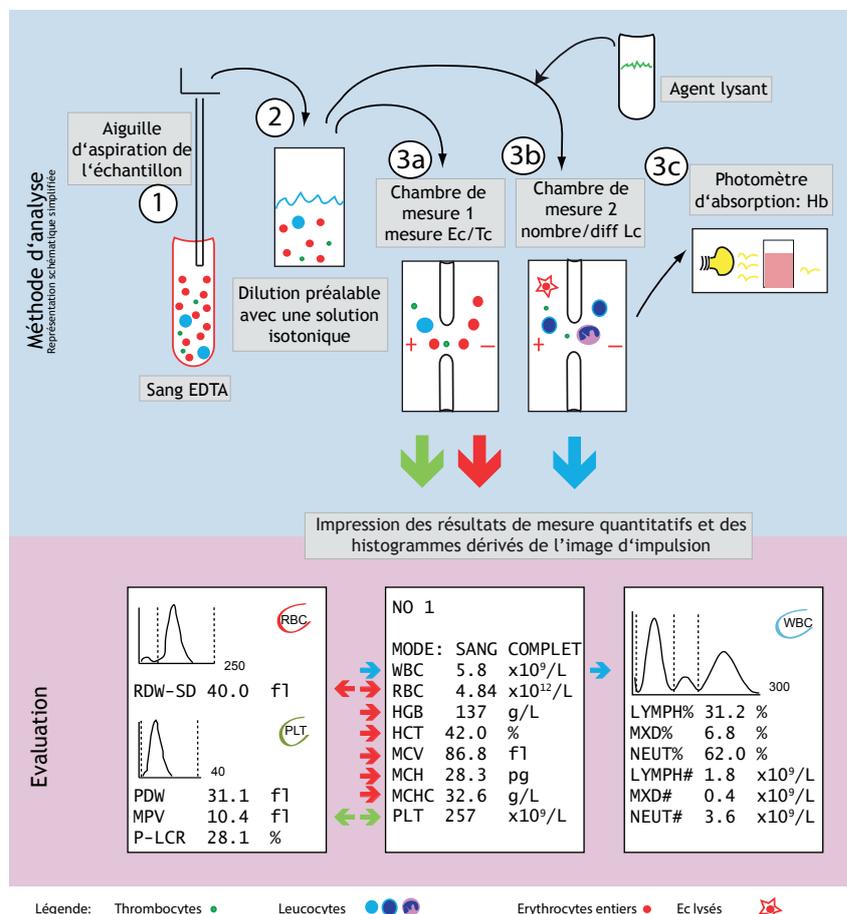
Les résultats de la différenciation des leucocytes sont exprimés en pour-cent et en chiffres absolus (quantitatif) et représentés sous forme de graphique, soit «d'histogramme». En outre des avertissements, «Flags», signalent d'éventuels problèmes techniques ou des résultats pathologiques du patient.

L'utilisateur de l'appareil (analyste biomédicale, assistante médicale) est responsable de la validation technique des résultats de mesure. Celui-ci doit interpréter correctement les résultats, réaliser éventuellement un examen microscopique du frottis sanguin respectivement transmettre les résultats au médecin prescripteur. Des connaissances de la technique de mesure ainsi que de l'interprétation de l'histogramme sont indispensables dans ce contexte.

## Mesure des paramètres hématologiques avec la méthode par variation d'impédance

Le sang destiné à l'analyse est dilué avec une solution isotonique conductrice, puis transféré dans différentes chambres de mesure. A ce niveau-là, les cellules passent individuellement à travers un orifice de mesure sur lequel est appliqué un courant continu. Les cellules étant de mauvais conducteurs électriques, le passage de chaque cellule à travers l'orifice de mesure augmente la résistance électrique. En présence d'un courant constant, ceci entraîne une augmentation de la tension entre les électrodes, qui est enregistrée comme impulsion électrique. Chaque impulsion correspond alors à une cellule comptée et la hauteur du pic de l'impulsion correspond au volume de la cellule. L'image formée par ces impulsions est transformée en une représentation graphique, un «histogramme», et finalement imprimée avec les résultats quantitatifs. Les numérations cellulaires se font dans deux chambres de mesure différentes (chambre Ec/Tc et chambre Lc).

Un agent lysant est ajouté dans la chambre destinée aux leucocytes. Ce réactif provoque la lyse des érythrocytes et le rétrécissement des thrombocytes. Une partie de l'échantillon lysé est transférée en même temps, pour le dosage de l'hémoglobine, dans une unité de mesure séparée où elle est analysée par photométrie d'absorption.





«Flags»

Problèmes techniques potentiels

Interférences dans la zone du discriminateur inférieur p.ex.

- agrégats plaquettaires volumineux  
→ vérifier sur le frottis sanguin (pseudo-Tc-pénie induite par EDTA?)
- plaquettes géantes  
→ vérifier sur le frottis sanguin
- érythroblastes  
→ vérifier sur le frottis sanguin, > 5 ébl/100 Lc, corriger manuellement le nombre de Lc.

- érythrocytes résistants à la lyse  
→ év. diluer l'échantillon

Interférences dans la zone du discriminateur supérieur p.ex.

- cellules immatures, blastes  
→ vérifier sur le frottis sanguin
- nombre de Lc extrêmement élevé  
→ diluer l'échantillon

Résultats pathologiques potentiels

- suspicion de précurseurs de la granulopoïèse
- suspicion de lymphocytes atypiques
- suspicion de cellules immatures (blastes)
- suspicion d'éosinophilie/basophilie
- suspicion de monocytose

→ vérifier sur le frottis sanguin

Documentation des résultats de différenciation quantitatifs

%TYPE CELLULAIRE: pourcentage sur 100 leucocytes

# TYPE CELLULAIRE: nombre absolu (proportion par rapport au nombre total de Lc\*)

\*Calcul des nombres absolus: (nombre total de Lc /100) x %TYPE CELLULAIRE

Impressum

Auteur Annette Steiger  
Photos Dr. R. Fried

Conseil professionnel:  
K. Schreiber, Dr. J. Goede  
Clinique d'Hématologie  
Hôpital Universitaire Zürich

Différence dans la classification des sous-populations leucocytaires illustrée par l'exemple de l'ABX Micros et Sysmex KX-Serie/ Poch-i

Dans l'histogramme WBC (white blood cells), la plage de mesure pour les leucocytes est limitée par les appareils aussi bien dans la zone inférieure que supérieure (pour Sysmex p.ex. avec les discriminateurs fixes LD et UD). L'intégralité de la courbe des leucocytes doit évoluer dans cette zone. Deux autres discriminateurs (pour Sysmex p.ex. T1 et T2) permettent de différencier les trois populations de cellules.

Des problèmes techniques (facteurs perturbateurs) ou des résultats pathologiques peuvent affecter la différenciation correcte par les discriminateurs. Les automates affichent alors un «Flag» correspondant aux résultats (pour ABX Micros p.ex. G1: «Suspicion d'éosinophilie/ myélocytes/ neutrophiles hypersegmentés»). Ces mentions sont spécifiques à chaque appareil et sont listées dans le manuel d'utilisation de l'appareil ou dans les documents de formation du fabricant.

En important directement les résultats dans des systèmes électroniques, les informations «Flag» ne sont souvent pas envoyées en même temps. Il est donc particulièrement important que l'utilisateur de l'appareil procède correctement à la validation technique des résultats et transfère des informations importantes au médecin prescripteur.

**Sysmex KX-Serie/Poch-i**

WBC	6.7	[x10 <sup>3</sup> /μL]
LYM%	28.3	[%]
MXD%	17.4	[%]
NEUT%	54.3	[%]
LYM#	1.9	[x10 <sup>3</sup> /μL]
MXD#	1.2	[x10 <sup>3</sup> /μL]
NEUT#	3.6	[x10 <sup>3</sup> /μL]

Les monocytes et les éosinophiles se situant dans la même zone de l'histogramme, les courbes en cas de monocytoses (a) et d'éosinophilies (b) sont très similaires. Une différenciation microscopique permet une identification claire.

**ABX Micros**

WBC	7.8	10 <sup>9</sup> /L
%LYM	46.5	%
%MON	5.2	%
%GRA	48.3	%
#LYM	3.6	10 <sup>9</sup> /L
#MON	0.4	10 <sup>9</sup> /L
#GRA	3.8	10 <sup>9</sup> /L

ABX Micros Exemple d'un histogramme: essai interlaboratoire MQZH 2013-03 H3b, leucémie aiguë AML-M0

**WBC**

**Flags G1, G2 et M2**  
présomption de

- (lympho-) blastes
- myélocytes
- lymphocytes anormaux
- basophilie

WBC: 15.9 H 10<sup>9</sup>/L  
WBC Flags : M2 G1 G2  
DIFF:  
%LYM: 59.3 H %  
%MON: 26.5 H %  
%LYM: 14.2 L %  
#LYM: 9.4 H 10<sup>9</sup>/L  
#LYM: 4.2 H 10<sup>9</sup>/L  
#LYM: 2.3 H 10<sup>9</sup>/L

**MM2 Flag** (présomption de (lympho-) blastes, lymphocytes atyp., myélocytes, basophilie. (Flag G1 et G2 peu clairs). Microscopie 81% de blastes, ceux-ci correspondent aux populations Micros LYM et MON de 85.3%.