

Votre laboratoire –
aujourd'hui et demain

RISCH.CH

Hématologie

Yacir Salimi

13.06.2023

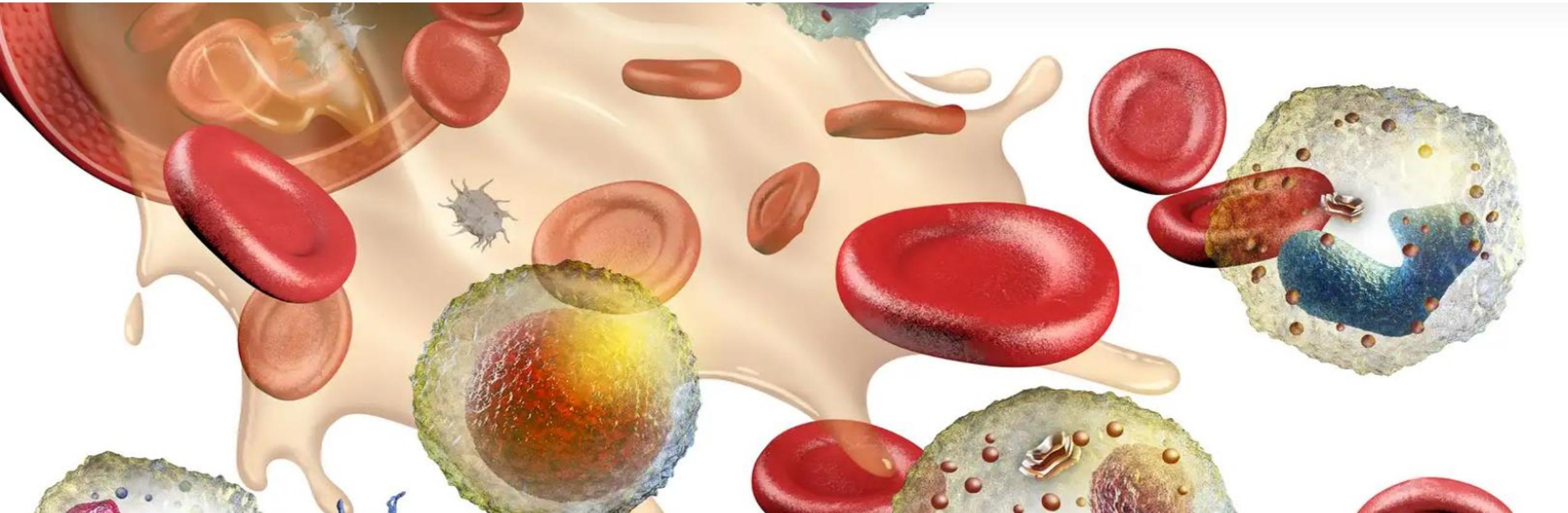
Table des matières

- Hématologie
- Hémogramme
- Automates
 - Impédance
 - Mesure optique
- Frottis sanguin
- Hémopathies
 - Anémies
 - Anémie microcytaire
 - Anémie ferriprive
 - Thalassémie
 - Anémie macrocytaire
 - Mégaloblastique
 - Paludisme
 - Déplacement vers la gauche
 - Lymphocytose (réactionnelle)



C'est quoi l'hématologie

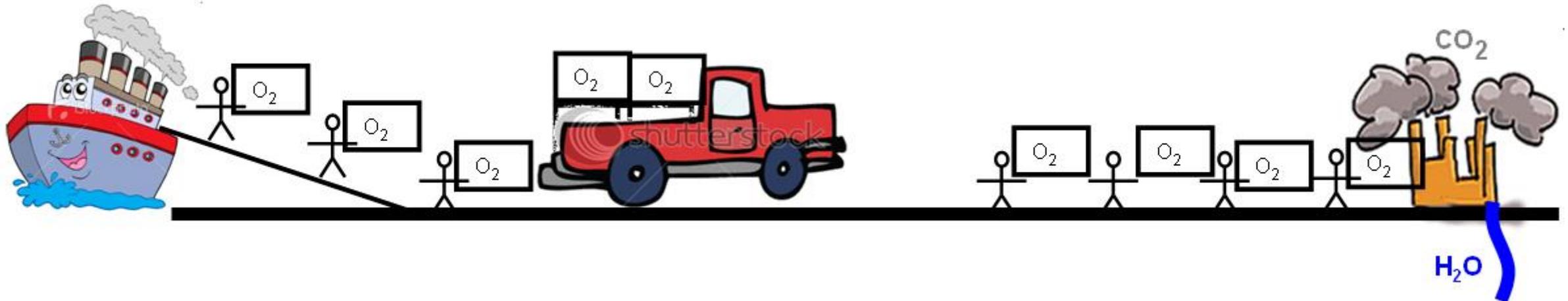
- L'hématologie étudie les éléments constituant le sang (globules rouges et blancs, plaquettes sanguines), la lymphe et les organes (moëlle osseuse, rate, amygdales) ainsi que les maladies qui y sont liées.





Hématologie

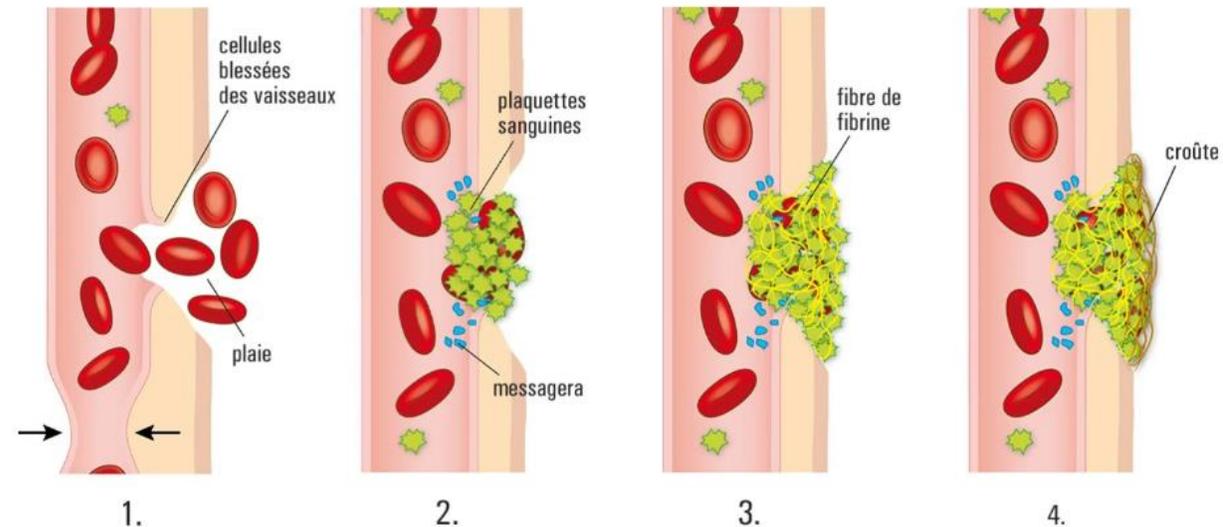
- Toutes les cellules sont fabriquées par la moelle osseuse
«usine de production» :
 - **Globules rouges:** le rôle des GR (érythrocytes) est de transporter l'oxygène





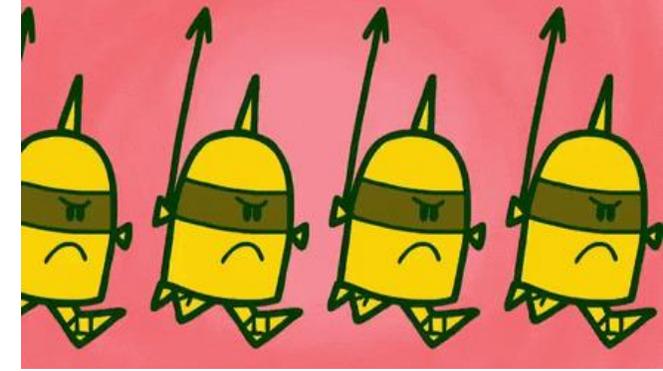
Hématologie

- Toutes les cellules sont fabriquées par la moelle osseuse
«usine de production» :
- Plaquettes : le rôle des plaquettes (thrombocytes) est d'empêcher les saignements





Hématologie



- Toutes les cellules sont fabriquées par la moelle osseuse

«usine de production» :

- **Globules blancs** : les leucocytes quant à eux luttent contre les infections, d'une façon très différenciée :



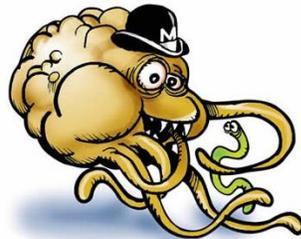


3 LIGNES DE DÉFENSE



Première ligne:

Peau, muqueuses, sécrétions
(barrière physique)



Deuxième ligne:

Phagocytes (neutrophiles, macrophages)
Protéines antimicrobiennes (interférons, complément)

Immunité innée: Tous ces militaires se battent au corps à corps avec l'ennemi.



Troisième ligne:

réponse humorale et cellulaire

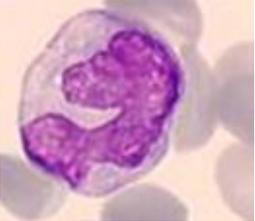
Immunité acquise: Spécifique (en fonction de l'agresseur).

Défenses
NON-SPECIFIQUE

Défenses SPECIFIQUE



Neutrophiles: phagocytose des bactéries

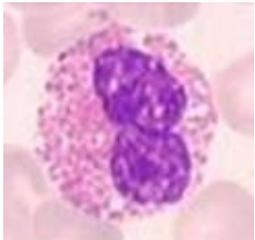


Monocytes: et macrophage → phagocytose



Lymphocytes B: production des Ac

Lymphocytes T: attaque des cellules infectées



Eosinophiles: destruction des parasites



Basophiles: libération de médiateurs chimiques



CPA
Cellules
présentatrices d'Ag



Hémogramme :





Hémogramme :

- Numération des éléments figurés : Erythrocytes, leucocytes, thrombocytes
- Dosage de l'Hémoglobine
- Mesure de l'Hématocrite
- Calculs des constantes érythrocytaires et plaquettaires
- Etablissement de la formule leucocytaire



Hémogramme :

Valeurs et constantes:

- GR, Hb, Hte, MCV : orientation du diagnostic des **anémies**
- Plaquettes: diagnostic des problèmes **d'hémostase primaire**
- GB, FL: diagnostic des pb infectieux, **inflammatoires, leucémiques**



Valeurs et constantes:

Formule leucocytaire (FL)

C'est la répartition des différentes sous-populations de leucocytes: **PN, PE,PB,L,M**

→ **Formule sanguine complète: hémogramme V**

- **FL automatisée** (5000 à 10000 leucocytes répertoriés)

Les résultats sont rendus en valeur relative % et en valeur absolue par mm³.

- **FL manuelle:**

Par lecture microscopique de frottis coloré au MGG (100 à 200 leucocytes répertoriés), si anomalie de FL automatisée

Mais l'interprétation n'est valable que sur les valeurs absolues



Défaut	Paramètres	Excès
Erythropénie	GR	Polyglobulie
Hemodilution	Hématocrite	Hemoconcentration
Anémie	Hémoglobine	
Microcytose	VGM (Normocytose)	Macrocytose
Hypochromie	CCMH*	
Hypochromie	TCMH (Normochromie)	
	IDR	Anisocytose
Thrombopénie	Plaquettes	HyperThrombocytose
Leucopénie	GB	Hyperleucocytose
Neutropénie	Granulocyte neutrophile	Polynucléose neutrophile
	Granulocyte éosinophile	Hyperéosinophilie
	Granulocyte basophile	Basocytose
Lymphopénie	Lymphocyte	Hyperlymphocytose
Monocytopénie	Monocyte	Monocytose

*La CCMH est considérée comme un indice moins sensible de l'hypochromie que la TCMH dans les anémies, en effet la TCMH diminue avant la CCMH dans l'installation d'un cas d'anémie

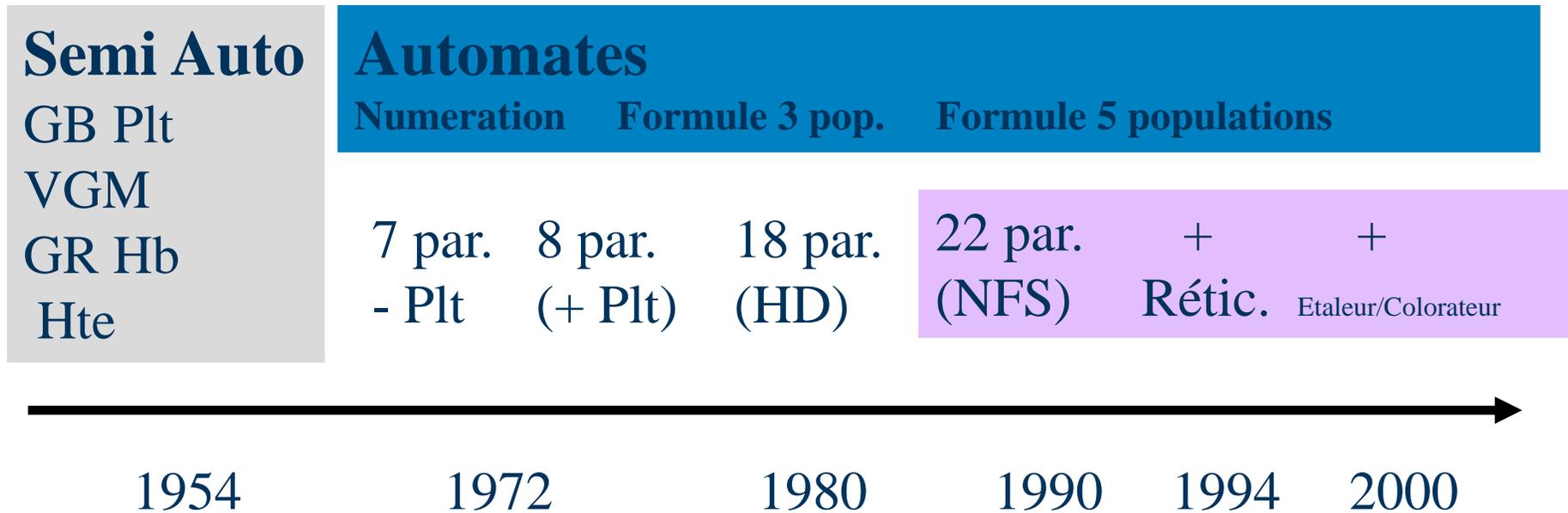


Automates





Automatisation - chronologie:





Pentra 120 Retic Horiba-ABX



Pentra 60 Horiba-ABX



Sysmex XT



ACT 5DIFF
Beckman
Coulter



CELL-DYN 3700 Abbot
Laboratories



CELL-DYN SMS Abbot
Laboratories



Coulter HMX
Beckman Coulter



Principes de mesures (automates)

1- La Variation d'impédance

2- Mesure optique



Impédence





Numération des 3 populations **GB**, GR, PLT

1- La Variation d'impédance

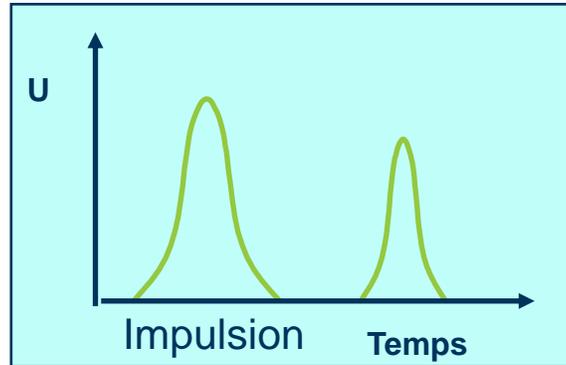
Principe Coulter du nom des inventeurs (Wallace and Joe Coulter- 1953),
Méthode de référence, la plus répandue.

→ Focalisation hydrodynamique

Principalement utilisée pour les numérations des **GR et PLT**

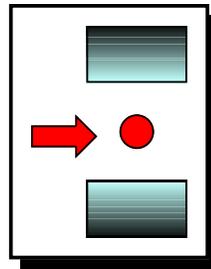


La Variation d'impédance



1 impulsion U = 1 particule

La valeur de l'impulsion de tension U est proportionnelle au volume cellulaire



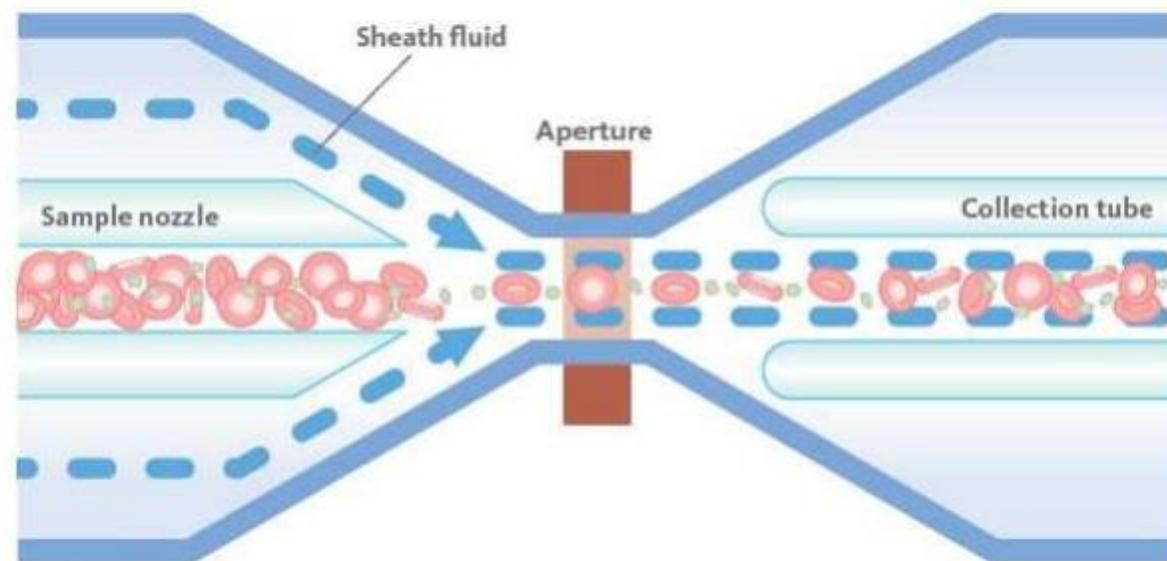
$$U = R I \text{ et } R = \rho l / s$$

r: résistivité et l: largeur



Principe: Focalisation hydrodynamique

Chambre de mesure RBC/PLT



※ This is a drawing.



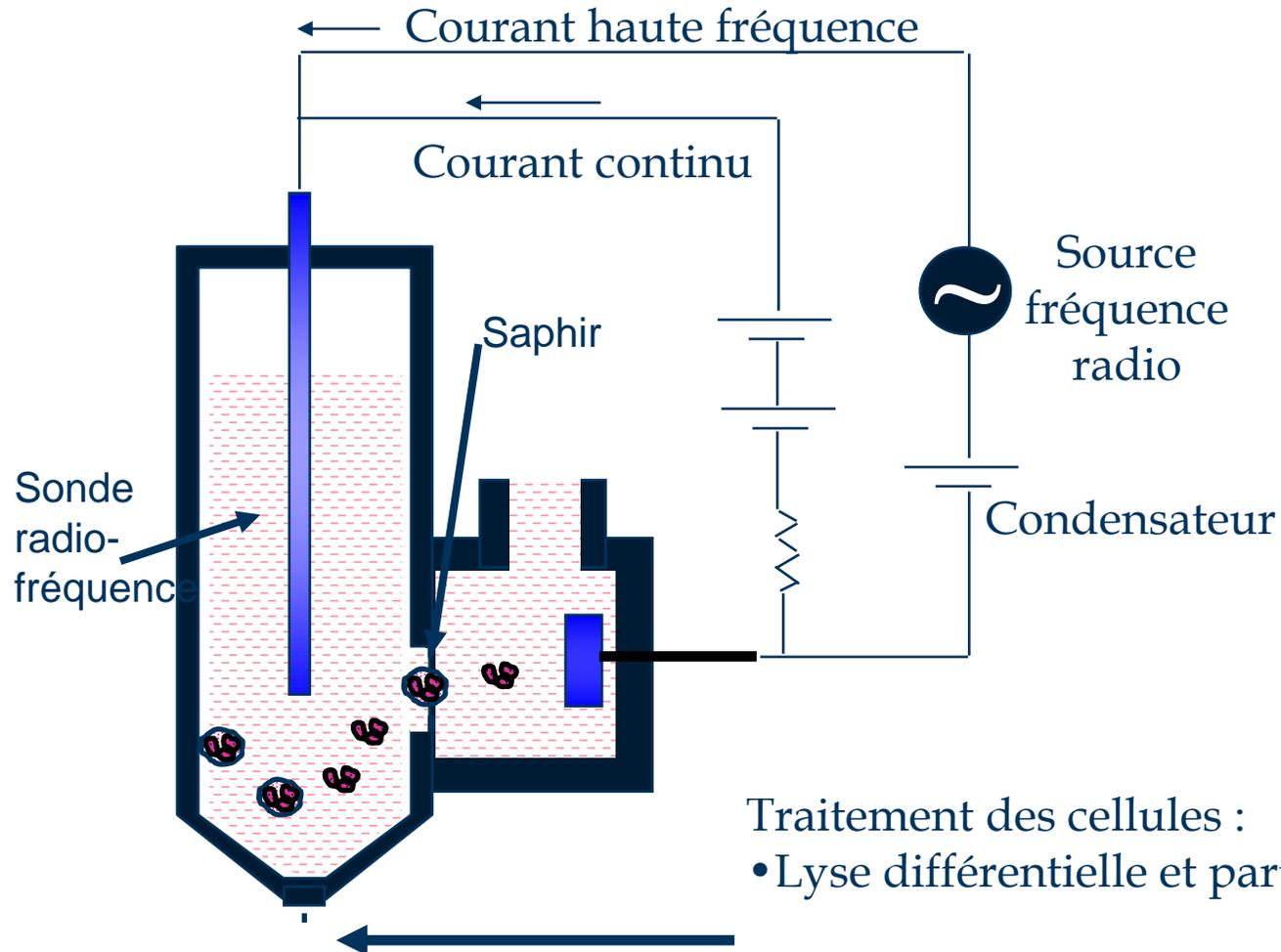
Mesure de la résistance électrique au centre de la colonne d'échantillon pour déterminer le nombre d'érythrocytes, de thrombocytes et la mesure de l'hématocrite

Le manchon de Cellpack progresse horizontalement et augmente la vitesse de passage des cellules les faisant traverser l'orifice capillaire une à une.

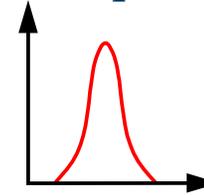


SYSMEX

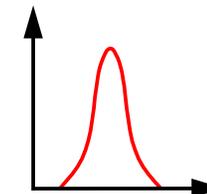
Diagramme RF/Volume



Impulsion RF

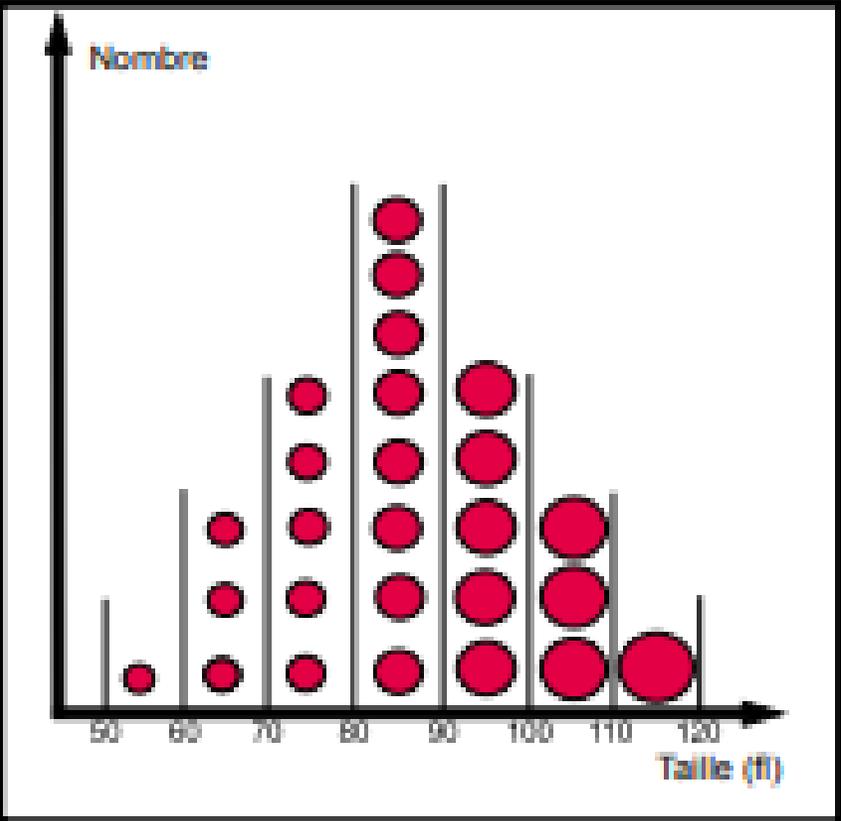
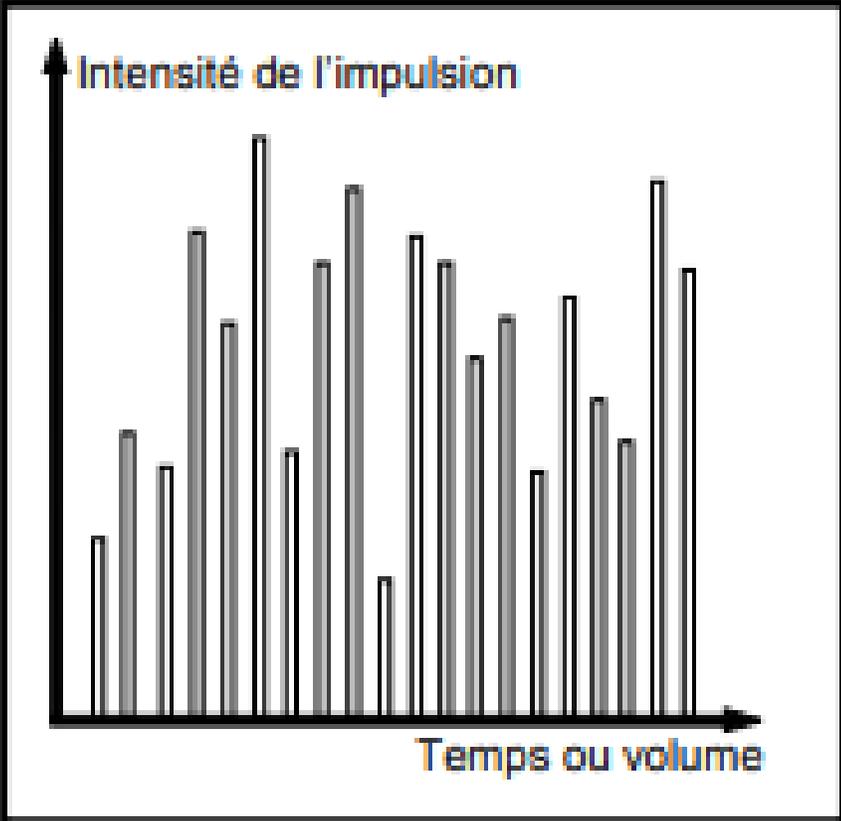


Impulsion impédance





Numération des GR et PLT





Numération des GR et PLT

le comptage et la mesure à partir d'une **suspension cellulaire diluée** avec une solution isotonique, le taux de dilution est très élevé (1/10 000 à 1/20 000) ce qui permet de rendre négligeable une interférence des GB.

Un seul bac de comptage:

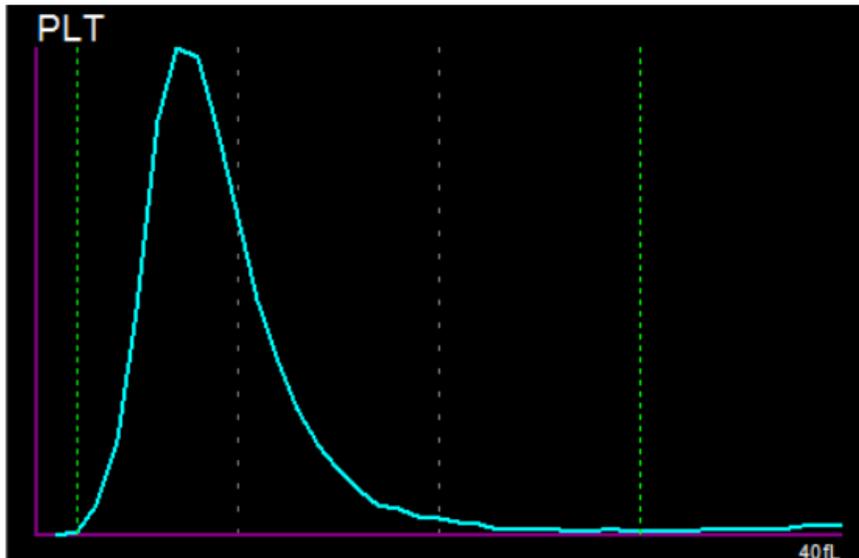
PLT : entre 2 fl et 40 fl

GR : entre 40 fl et 250 fl

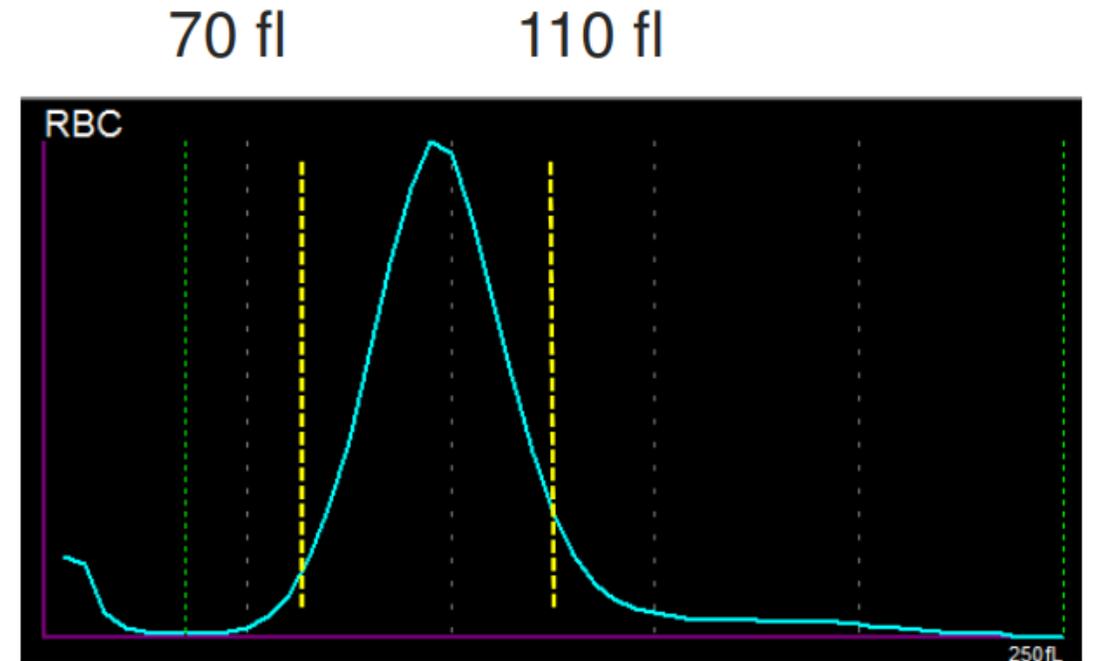
Chaque particule est placée dans un histogramme de distribution volumétrique



Numération des GR et PLT



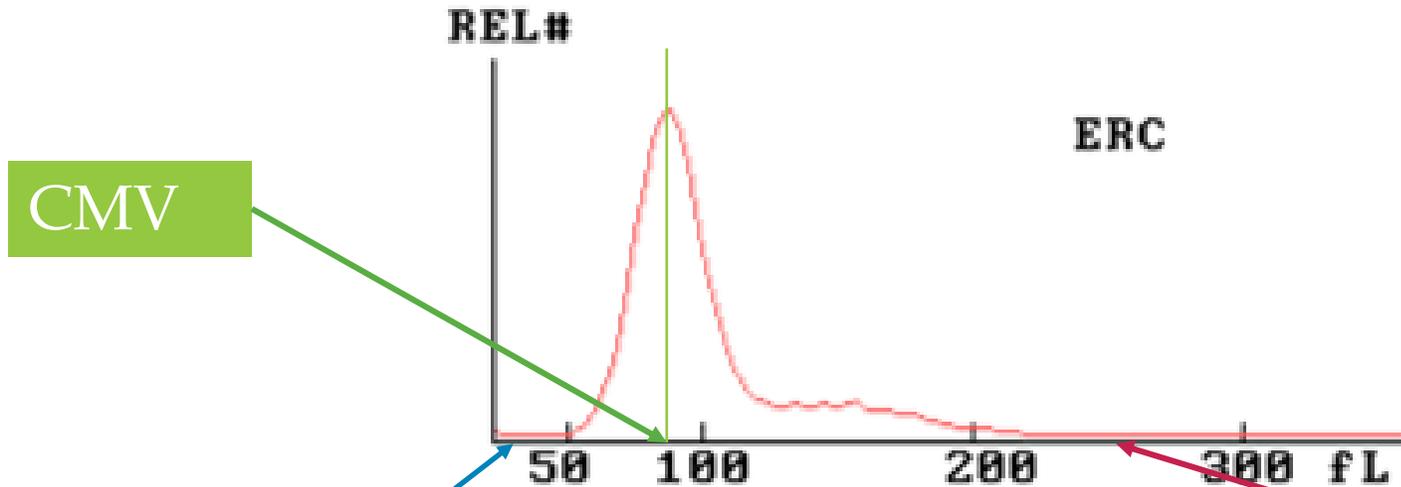
PLT : entre 2 fl et 40 fl



GR : entre 40 fl et 250 fl



Numération et histogramme des GR



Mise en évidence de fragments de cytoplasme ou de grandes plaquettes par l'analyse de l'histogramme à partir de 24 fl.

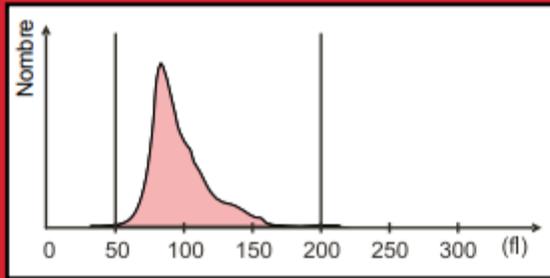
La trainée peut correspondre aux :

- Agrégats cellulaires
- Cellules âgées
- Globules blancs



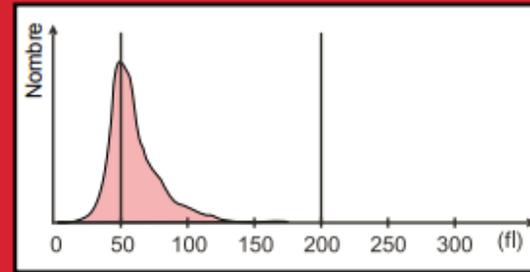
Numération et histogramme des GR

Normocytose



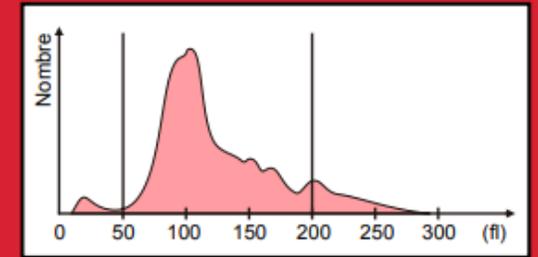
La courbe se situe entre le discriminateur inférieur et supérieur

Microcytose



La courbe se situe près du discriminateur inférieur ou en dessous de celui-ci

Macrocytose



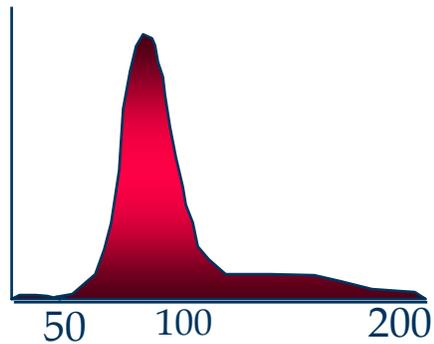
Le pic de la courbe s'élève clairement en direction du discriminateur supérieur



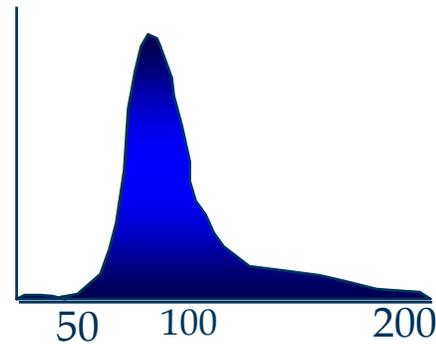
Numération des GR paramètres calculés

RDW (Red Cell Distribution Width)

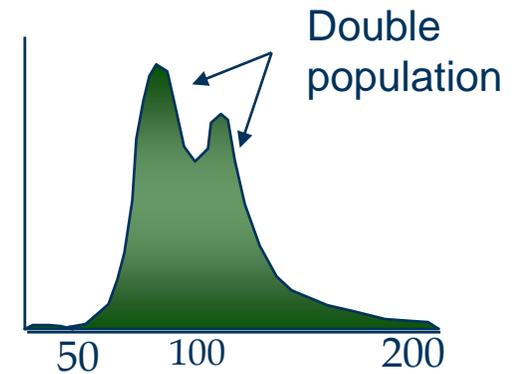
C'est une valeur statistique correspondant au CV % calculé sur la distribution des rouges = coefficient d'anisocytose.



RDW Normal < 15%



RDW Elevé 18 %

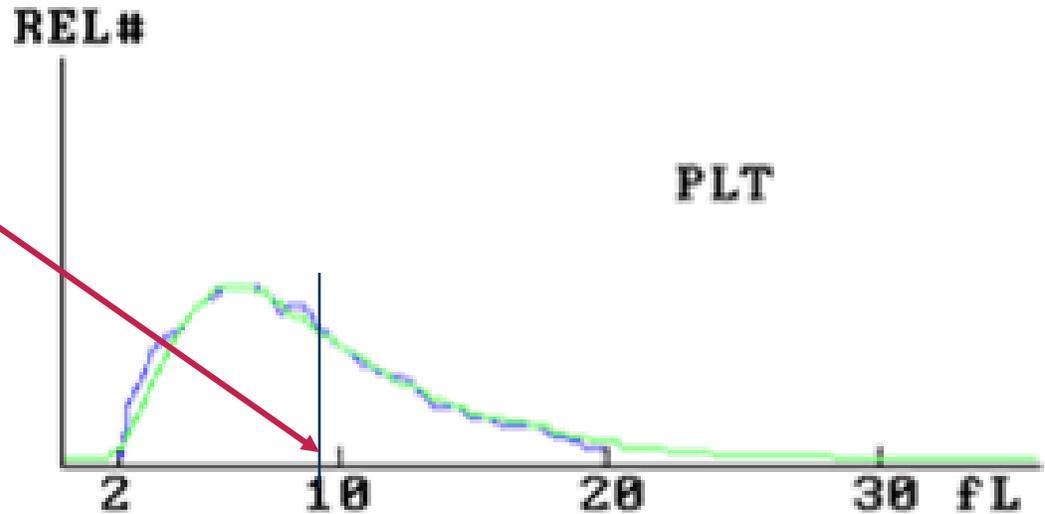


RDW très Elevé 35 %

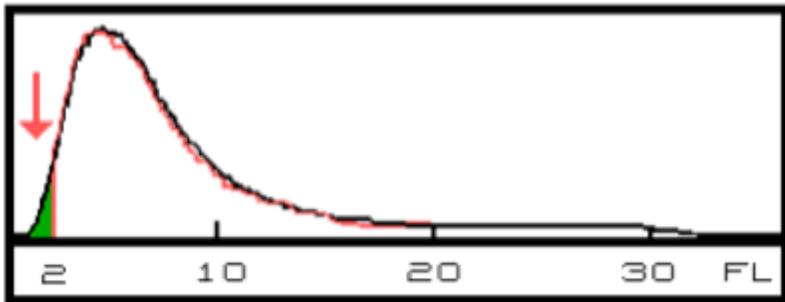


Numération des PLT paramètres calculés

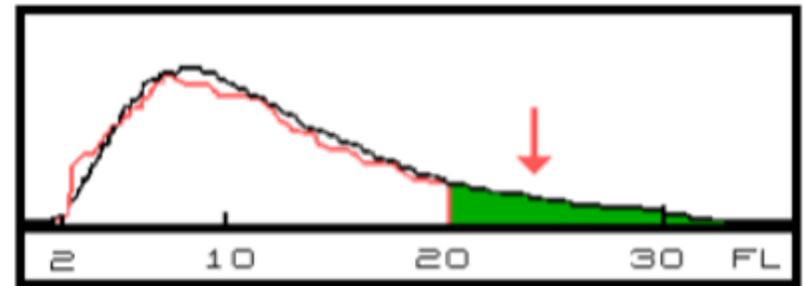
VMP



PDW :
Indice de distribution plaquettaire CV % sur la distribution volumétrique des PLT = coefficient d'anisocytose plaquettaire



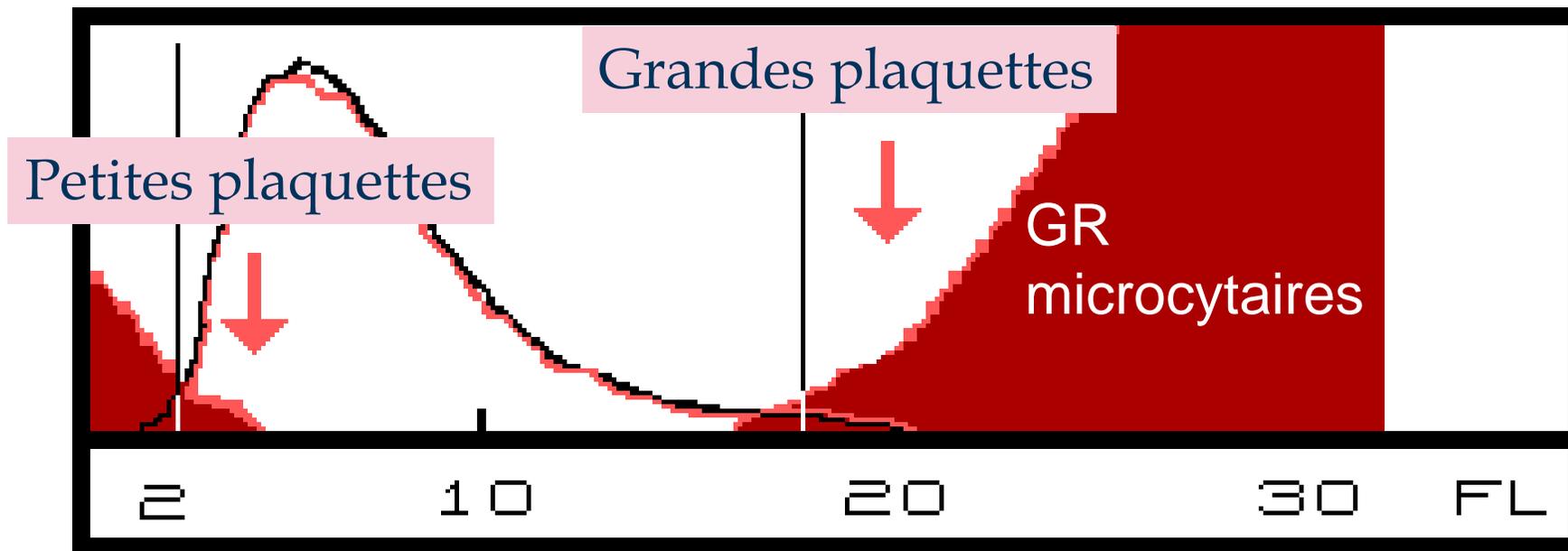
Petites plaquettes, débris ? < 2 fl



Grandes Plaquettes > 20 fl



Numération des PLT paramètres calculés





Numération des 3 populations GB, GR, PLT

1- La Variation d'impédance

La formule leucocytaire 3 populations ou formule approchée, (GRA / Lympho / Mono):

Pour la majorité des automates, elle est réalisée par analyse par variation d'impédance des volumes cellulaires des globules blancs, **après lyse des GR**, et action différentielle d'une lyse ménagée sur les GB, lyse qui modifie leur volume.



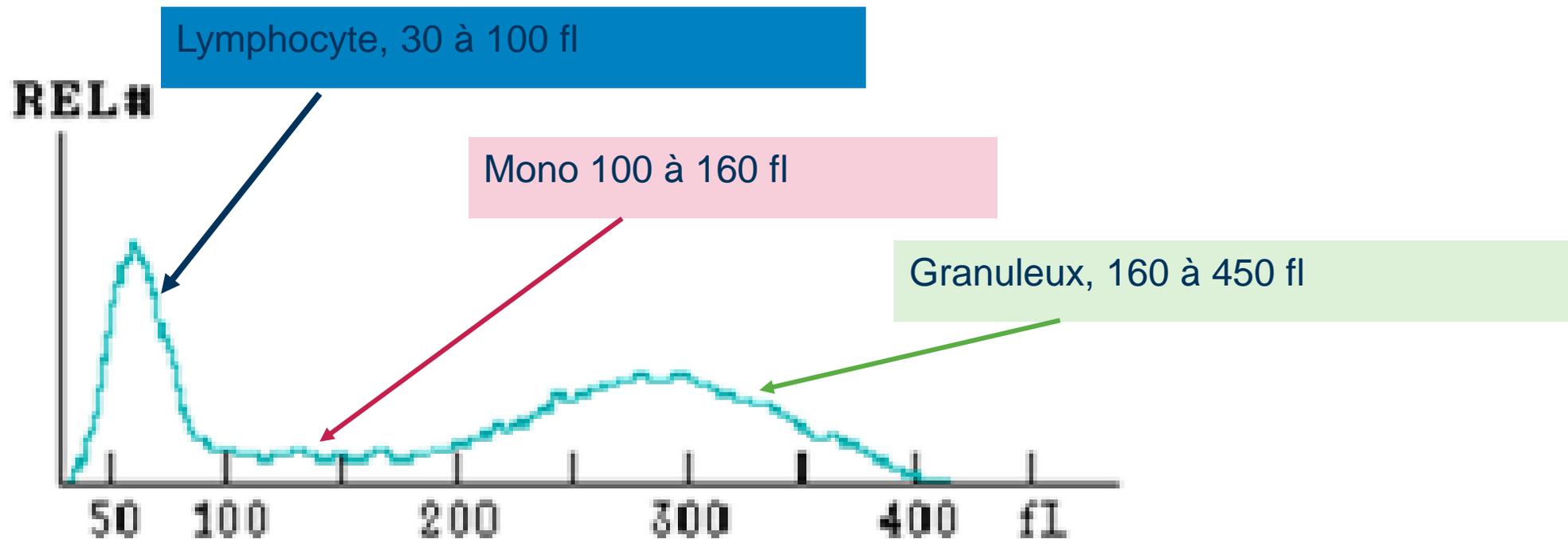
Numération des 3 populations GB, GR, PLT

Numération et histogramme des GR

Reconnaissance des cellules d'après le volume résultant, par variation impedance

3 sous populations : Lymphocytes, Monocytes, Granulocytes.

Les anomalies de distribution sont signalées par des alarmes.





Numération des 3 populations GB, GR, PLT

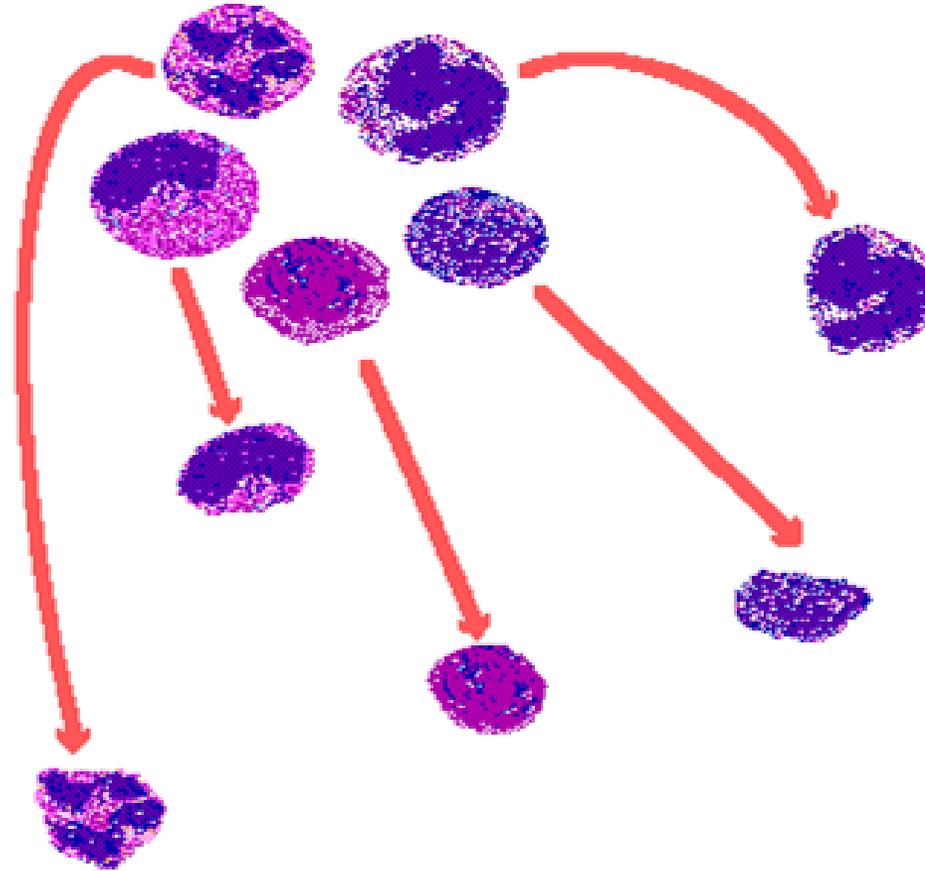
Rôle de la cytololyse différentielle (cytololyse ménagée)

La membrane devient semi-perméable

Le contenu cytoplasmique est libéré

La membrane cytoplasmique se rétracte autour du noyau et des granulations

Le volume final dépend de la taille du noyau, de sa lobularité et des granulations.





Numération et histogramme des GR

La numération à 5 populations, permet en associant plusieurs principes technologiques, l'analyse des GN, GE, GB, M, L, et le repérage facilité de populations anormales du sang (lymphocytes atypiques, cellules immatures précurseurs, érythroblastes...)



Formule Leucocytaire 5 populations

Circulation des GB , après hémolyse des GR, individuellement, séparés, dans un système liquide de flux laminaire:

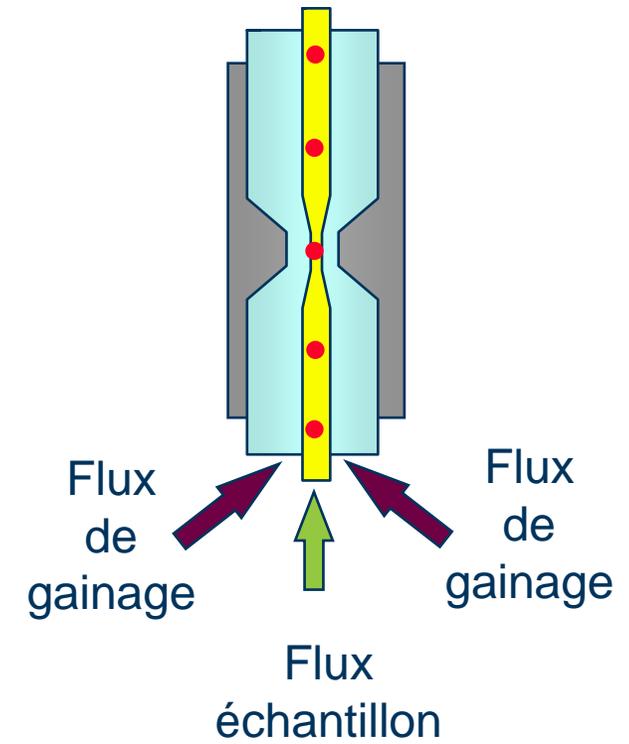
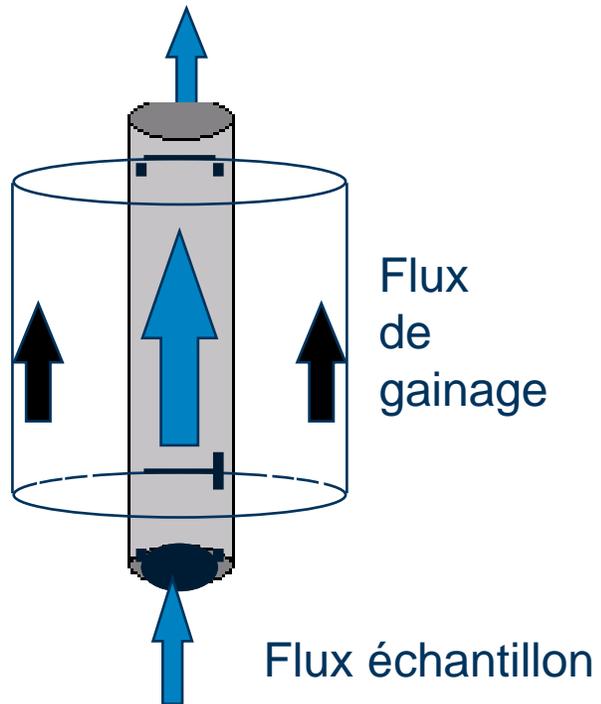
- **Focalisation Hydrodynamique** ou gainage cellulaire
 - Principe de base de la technologie de CytoMétrie en Flux (CMF) = **Fluorocytométrie**
- FACS « Fluorescence Activated Cell Sorter »

Apparition successive des GB individualisés dans un ensemble de mesure, permettant une analyse optique simultanée de plusieurs paramètres naturels :

- volume cellulaire
- Présence de granulation
- Hétérogénéité du noyau
- Coloration et fluorescence de la cellule.



Focalisation Hydrodynamique

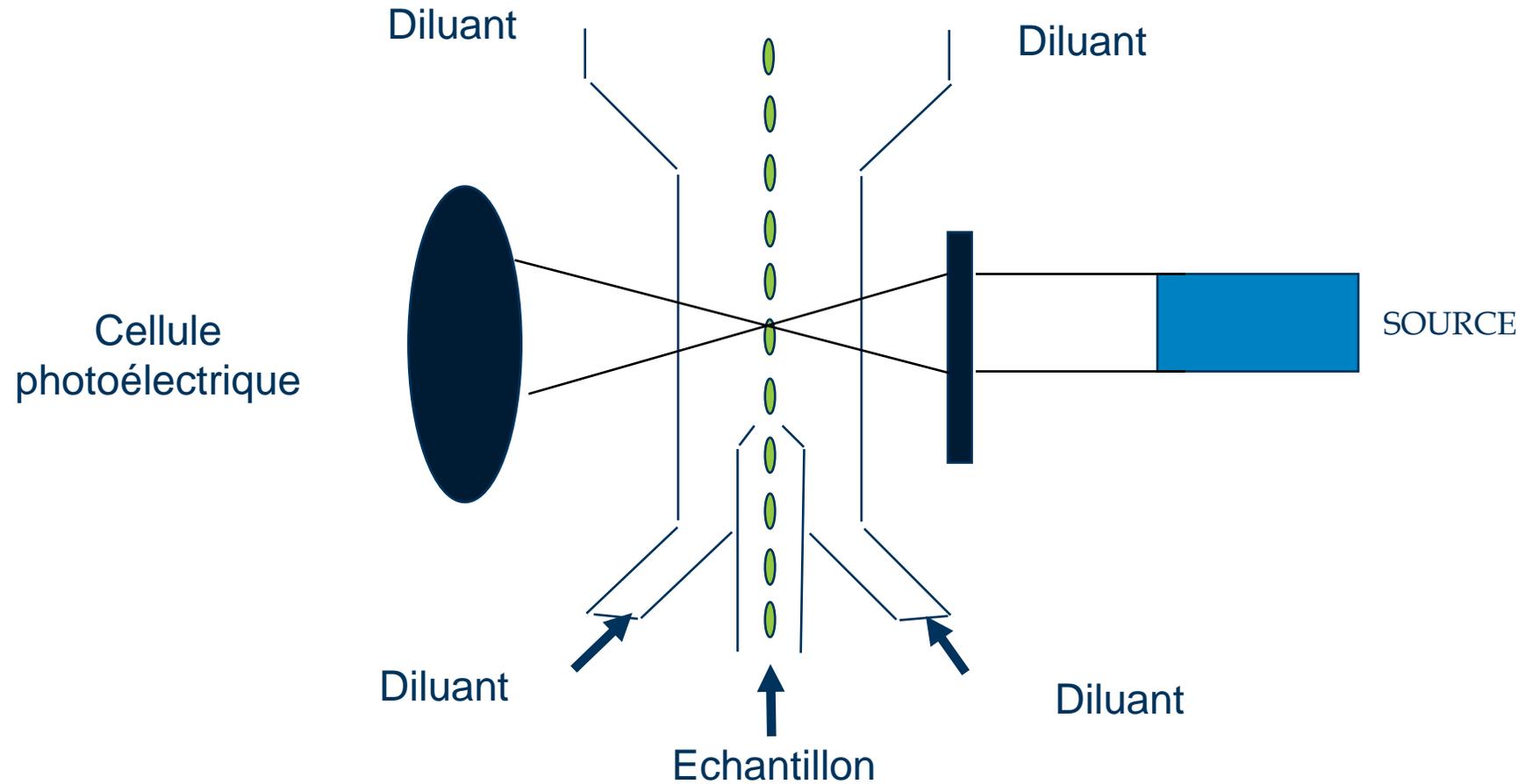




Mesure optique : (fluorocytométrie)



Fluorocytométrie

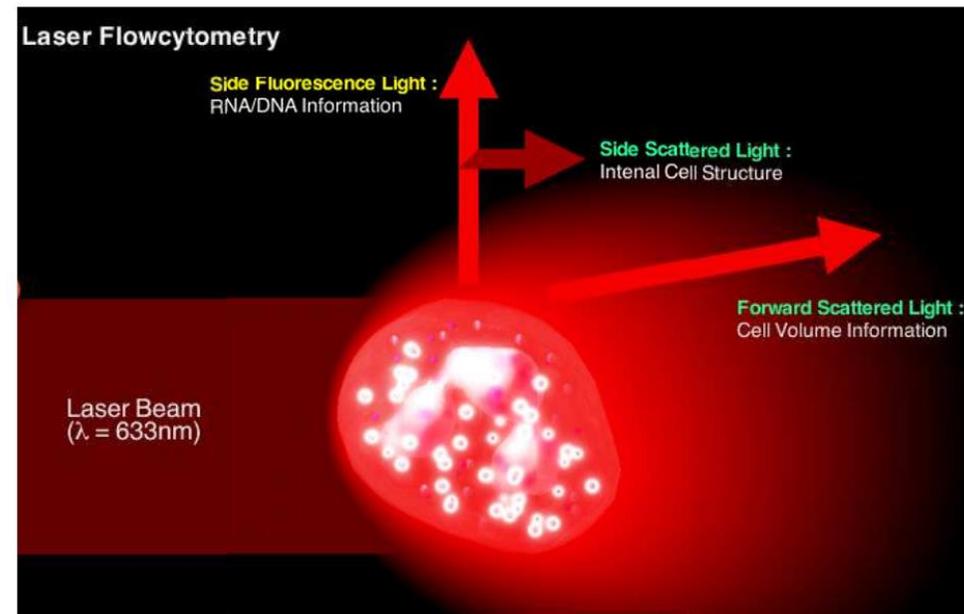
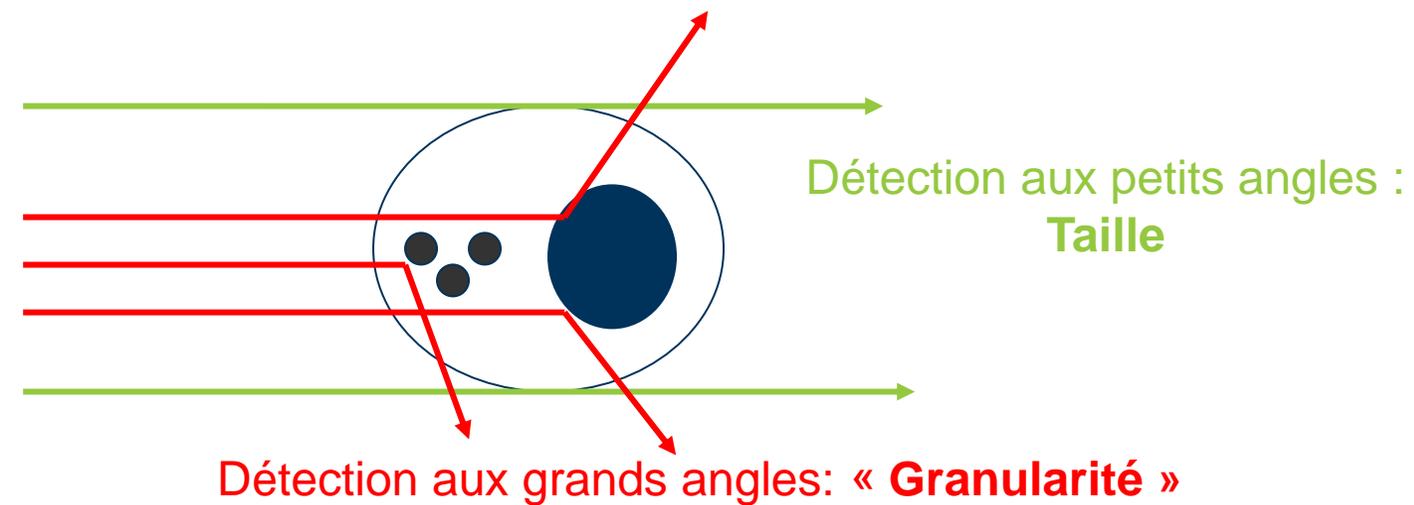


Diffraction lumineuse

La cellule passe individuellement devant un faisceau lumineux conventionnel (lampe halogène à vapeur de Hg ou de Xe) ou LASER (Argon, Krypton-Argon, Helium-Neon...)



Fluorocytométrie





Fluorocytométrie

Analyse cellulaire tridimensionnelle

Fluorescence (SFL):

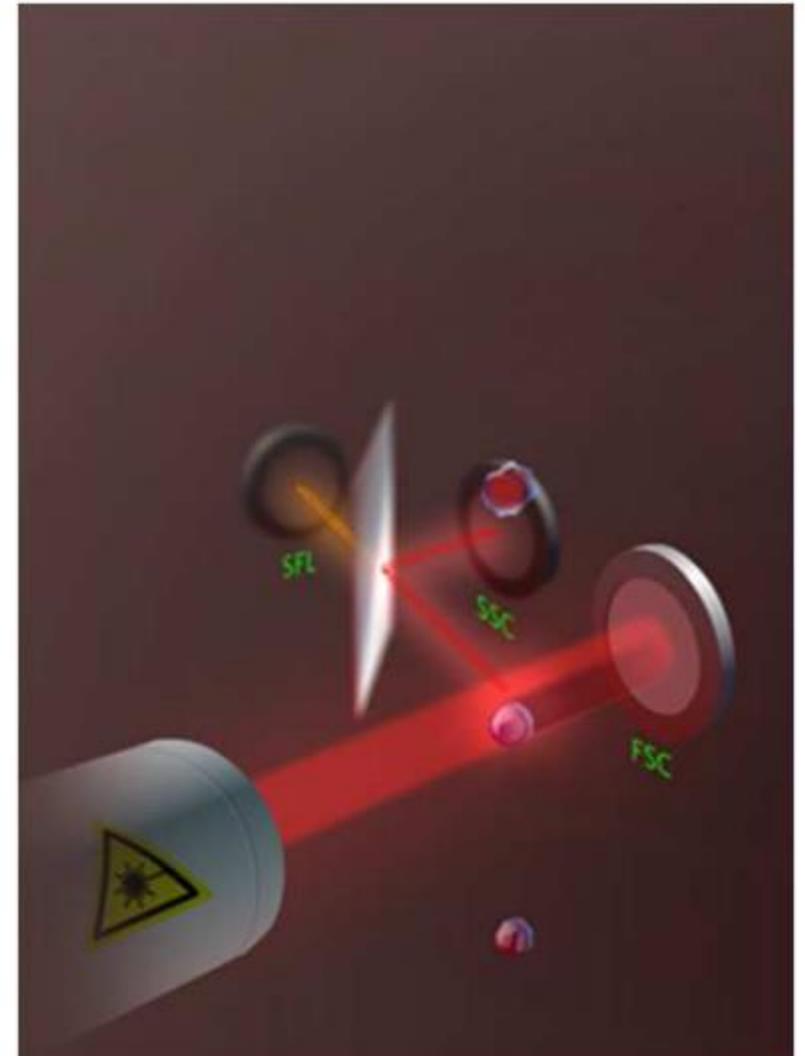
Information selon contenu en ARN/ADN de la cellule

Petit angle (FSC):

Information sur la taille de la cellule

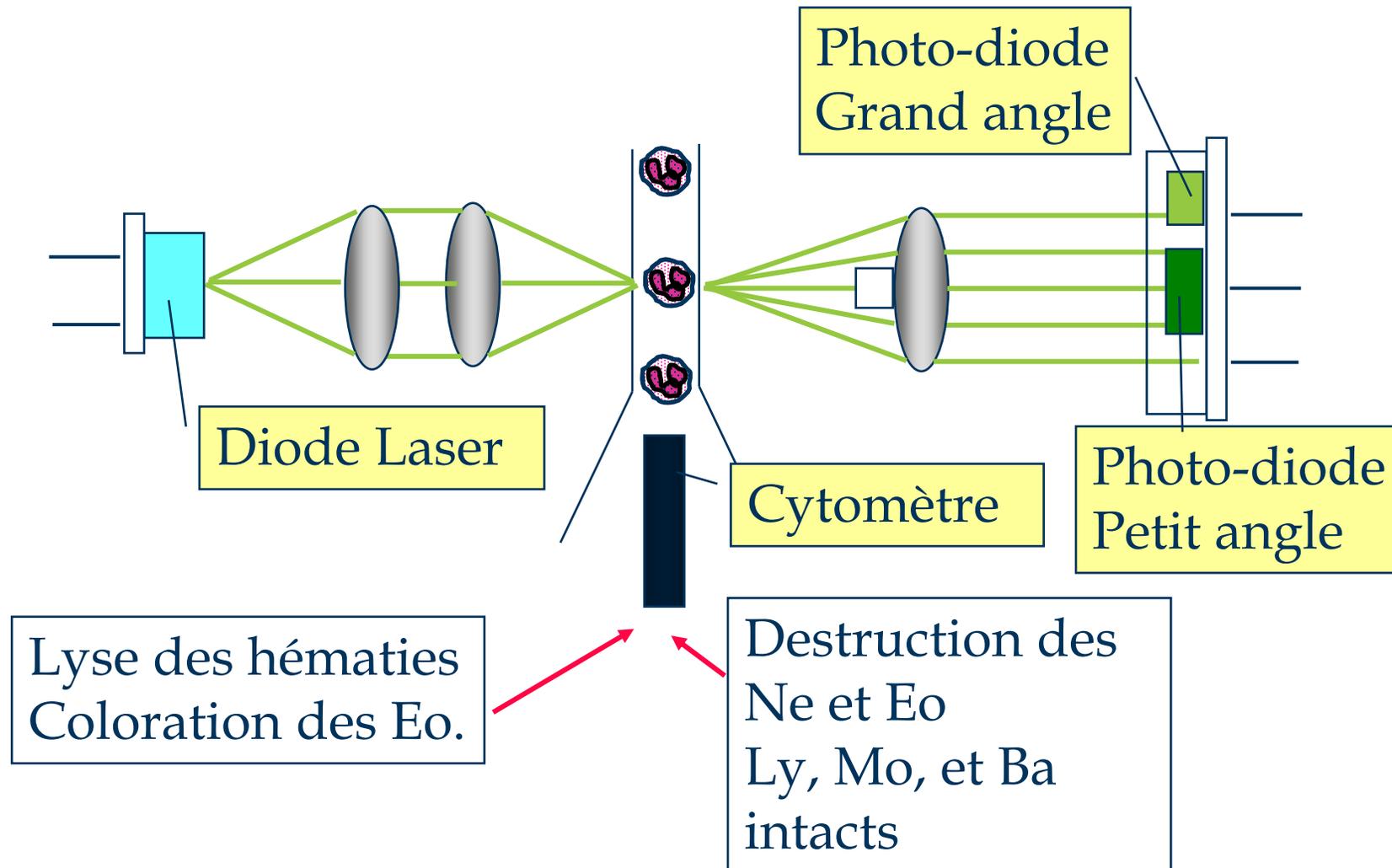
Grand angle (SSC):

Information sur la structure de la cellule



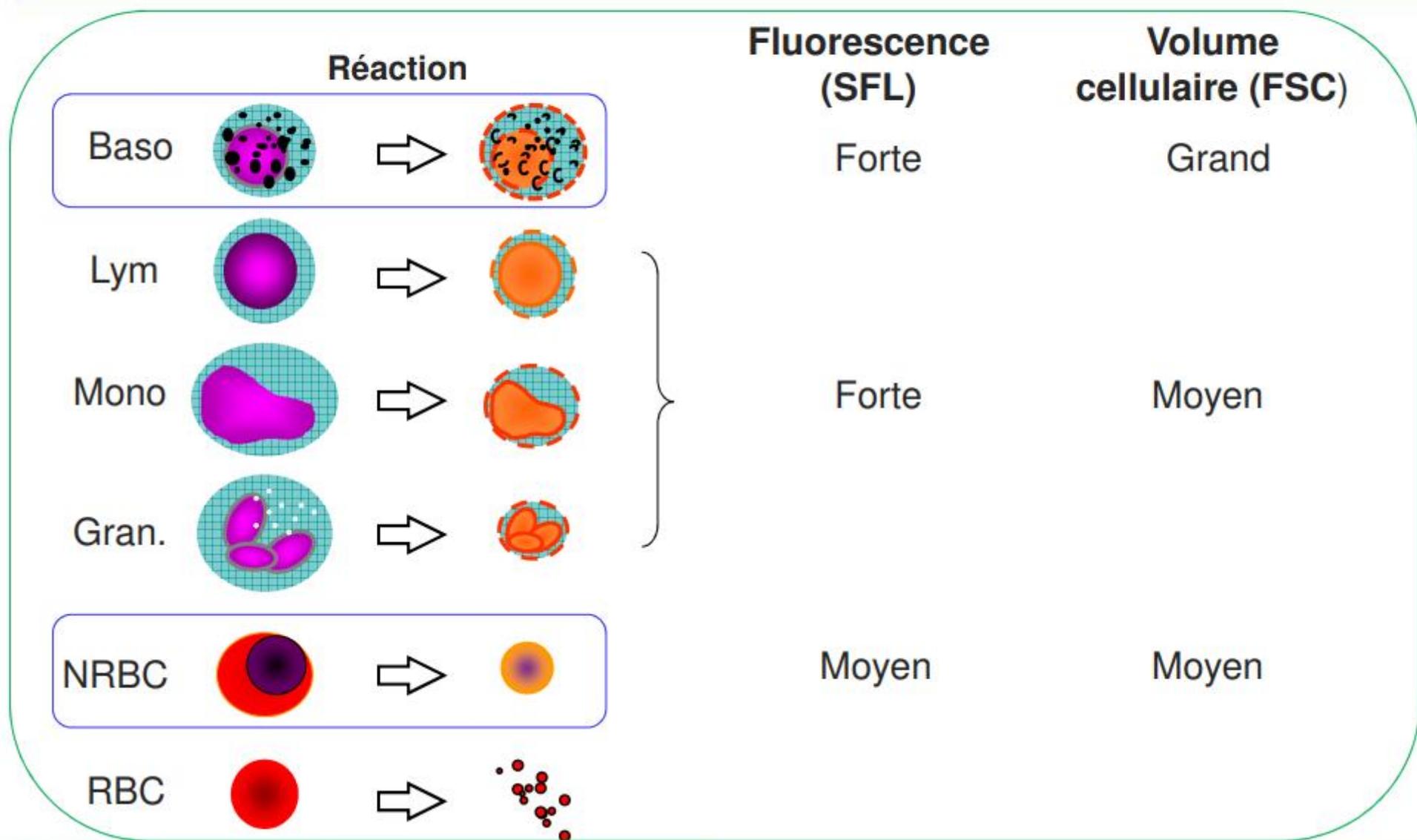


SYSMEX



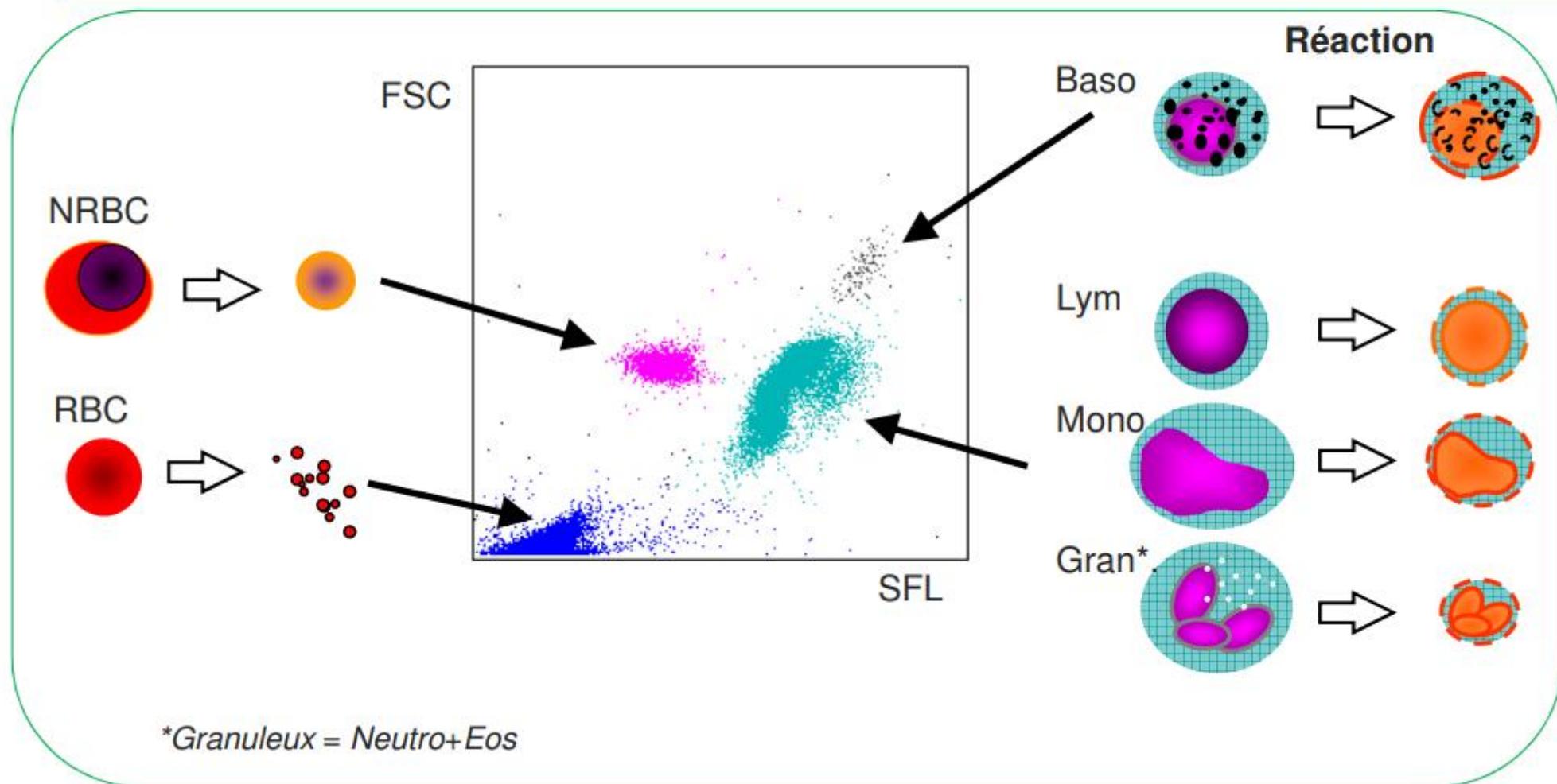


Canal WNR – Réaction



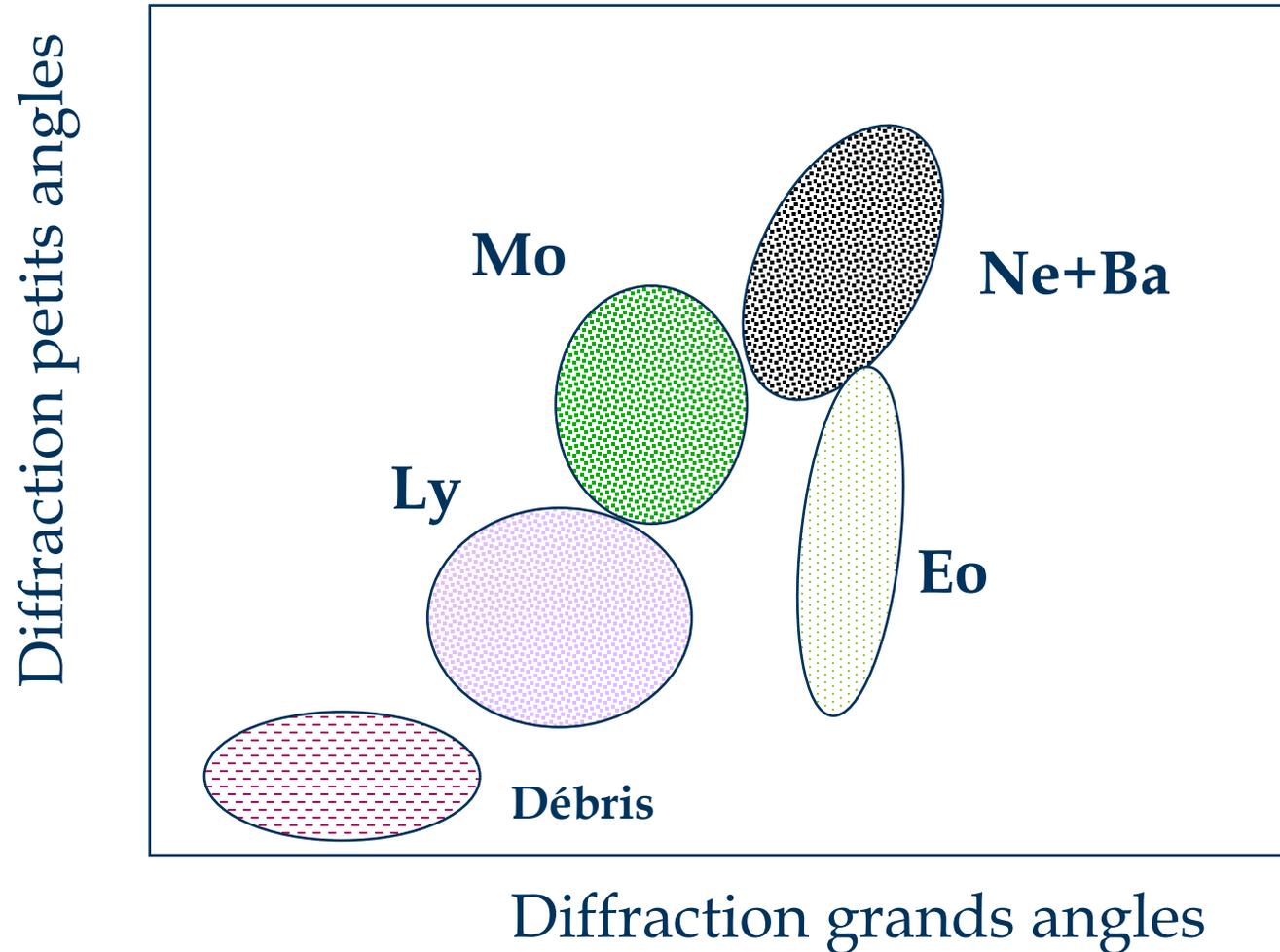


Canal WNR – Réaction





Formule Leucocytaire 5 populations



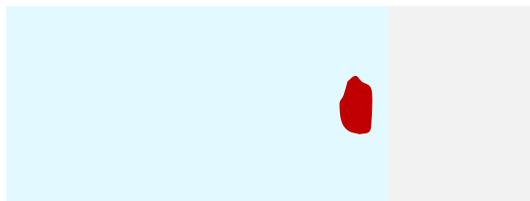


Frottis sanguin





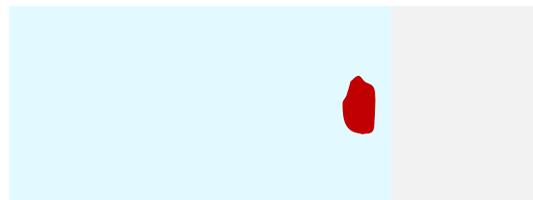
Appliquer des gouttes de sang



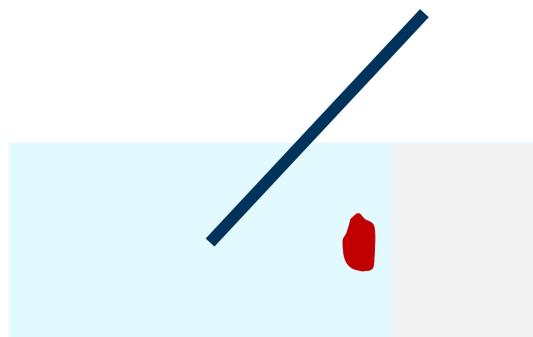


Appliquer des gouttes de sang

1



2



Placer le verre à frottis à un angle de 30 - 45° devant la goutte de sang et l'approcher

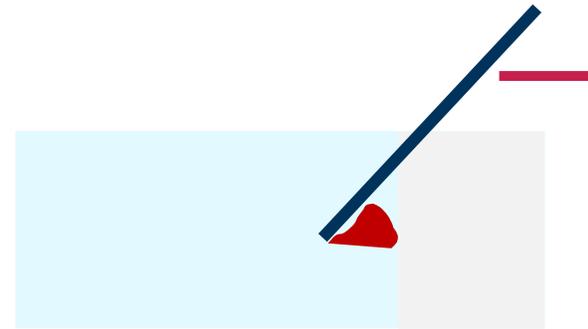


Appliquer des gouttes de sang

1

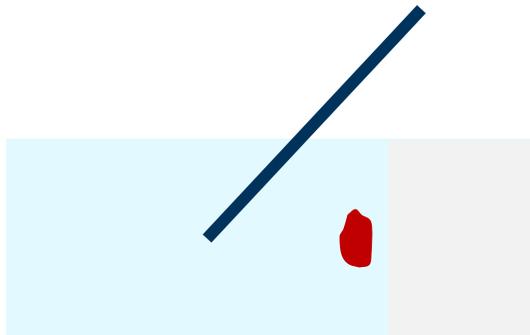


3



Laisser le sang s'étaler sur tout le bord

2



Placer le verre à frottis à un angle de 30 - 45° devant la goutte de sang et l'approcher

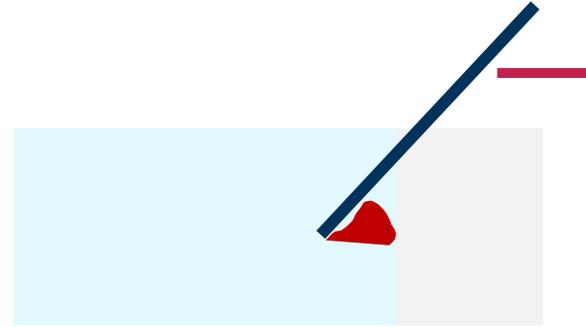


Appliquer des gouttes de sang

1

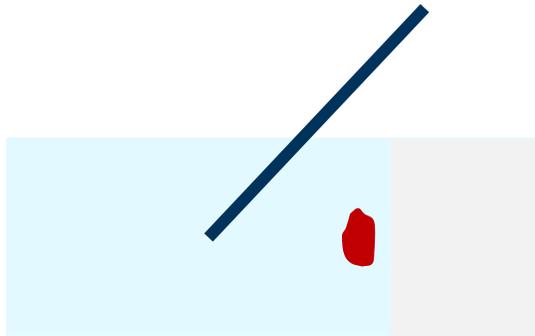


3

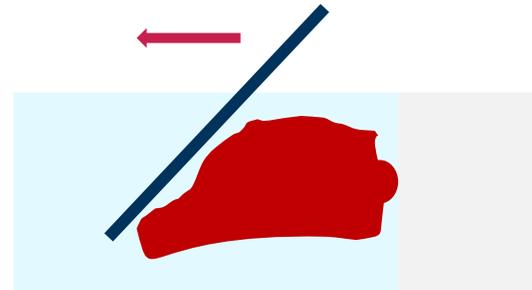


Laisser le sang s'étaler sur tout le bord

2



4



Placer le verre à frottis à un angle de 30 - 45° devant la goutte de sang et l'approcher

Tirer le verre à frottis vers l'avant d'un mouvement continu et rapide et étaler le sang.



Mise en œuvre

- Déposer une petite goutte (5ul) de sang sur une lame porte-objet étiquetée
- Placer le verre à frottis à un angle de 30 - 45° devant les gouttes de sang et l'approcher avec précaution
- Laisser le sang s'étaler sur tout le bord
- Étalez le verre avec un mouvement continu, tirer vers l'avant d'un mouvement rapide et étaler le sang



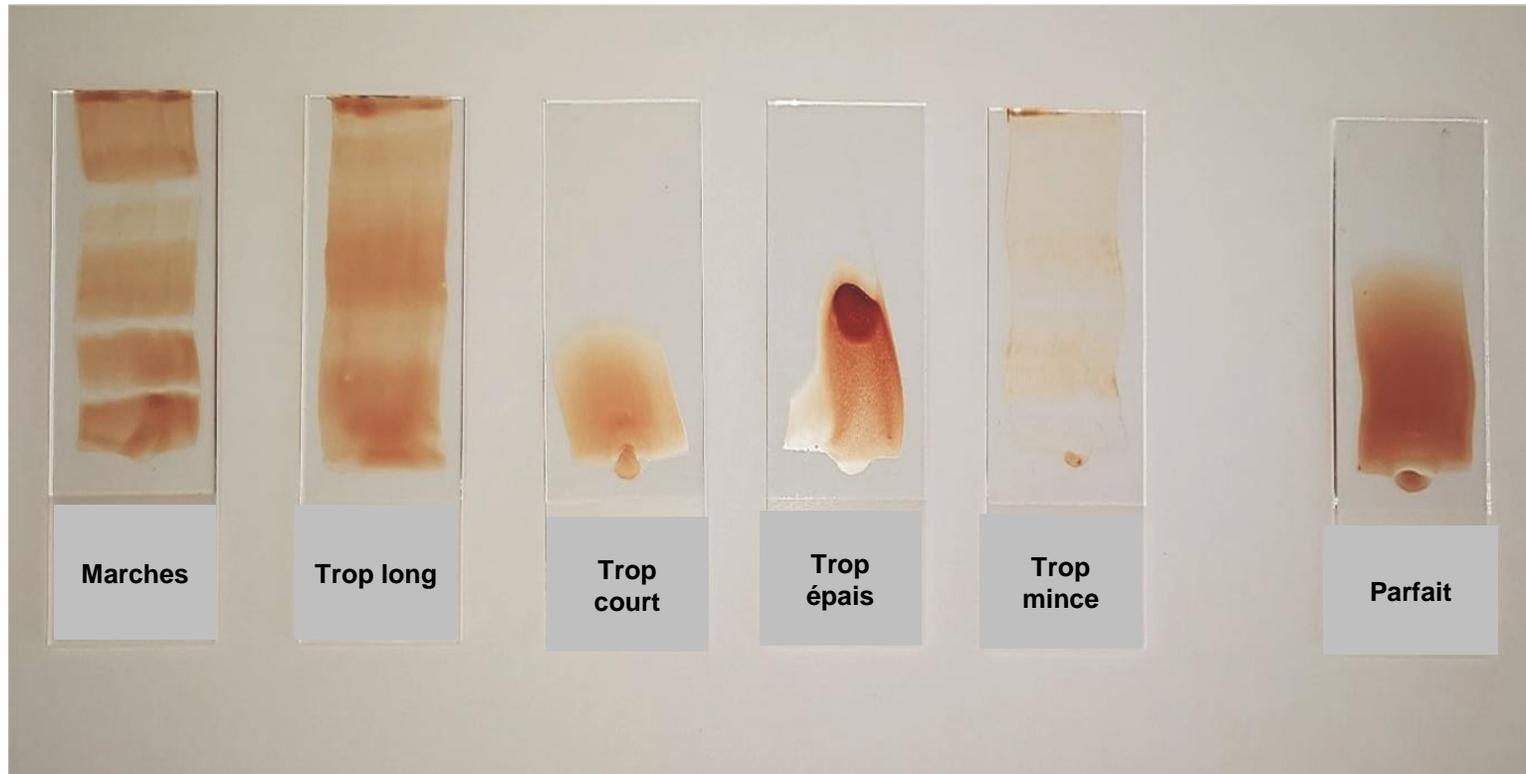
Qualité du frottis

- Ne doit être ni trop épais, ni trop mince
- Ne doit atteindre ni les bords, ni les extrémités de la lame.
- Ne doit pas présenter de trous, ni de stries
- Doit être aussi régulier que possible



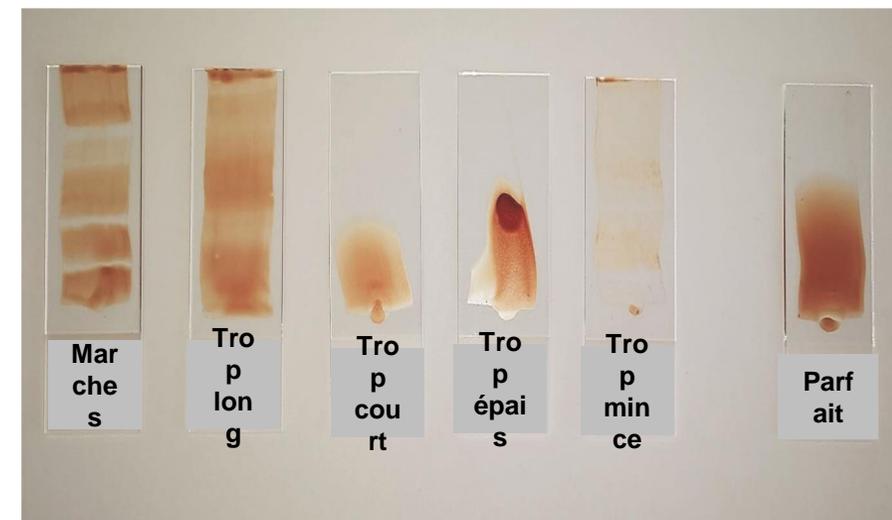
Qualité du frottis

- Pas de marches dans le frottis
- Au bout, un effilochage en forme de barbe





Qualité du frottis



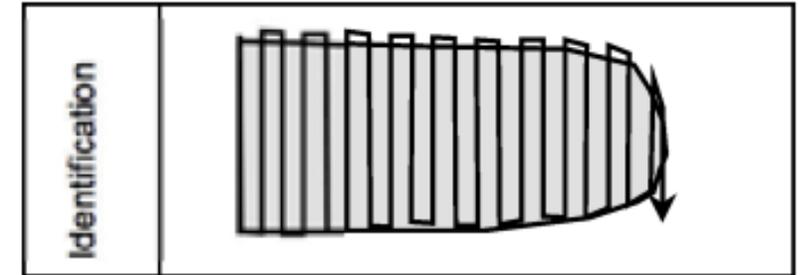
- **Zone trop épaisse:**
 - Les leucocytes et les érythrocytes sont petits et il est difficile de distinguer les détails morphologiques
- **Zone trop mince:**
 - Les érythrocytes sont plus grands et la distribution de l'hémoglobine semble uniforme (absence d'halo central)
- **Zone idéale:**
 - Les érythrocytes sont voisins mais ne se touchent pas (présence de l'halo central)



Méthode de lecture du frottis

– Faible grossissement:

Balayage systématique, d'un bord de frottis à l'autre, sur l'ensemble de la lame en partant de la tête jusqu'à la queue du frottis.

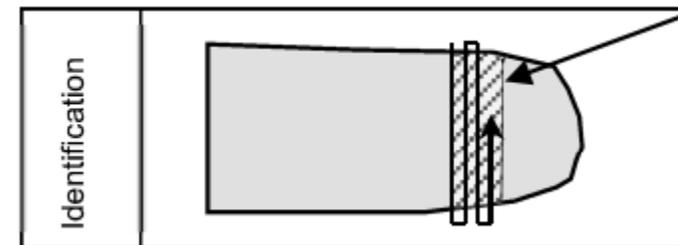


Tête corps queue

Régions d'un frottis sanguin

– Fort grossissement:

Sur la zone d'observation, l'ensemble des cellules est dispersé de façon homogène, normalement les GR sont équidistants les uns des autres, non chevauchants,



zone d'observation



Hémopathies





L'hémapathie comprends 3 volets

1- Les maladies bénignes:

- Les anémies
- Infections

2- Les maladies malignes :

- Leucémies (LLC, LLA, LMC....)

3- Les maladies de l'hémostase :

- Les hémorragies
- Les obstructions vasculaires «appelées thromboses»
- Hémophilie
- PTI



Pathologies érythrocytaires





Anémie

Définition:

C'est la diminution de l'hémoglobine (OMS 1997)

Enfant (< 5 ans)	< 100 g / L
Enfant (5-11 ans)	< 115 g / L
Enfant (12-14 ans)	< 120 g / L
Homme adulte	< 130 g / L
Femme adulte	< 120 g / L
Femme enceinte	< 110 g / L



Anémie

1- Paramètres

- Hémoglobine (g/L)
- Numération des érythrocytes (T/L = $10^{12}/L$)
- Hématocrite (%)



Anémie

2- Indices érythrocytaires

- MCV : **M**ean **C**orpuscular **V**olume - (volume globulaire moyen)
 $(\text{Hct/Ery}) \times 10 \text{ (fl)}$
- MCH : **M**ean **C**orpuscular **H**émoglobine - (teneur corpusculaire moyenne en Hb)
 $(\text{Hb/Ery}) \text{ (pg)}$
- MCHC : Mean Corpuscular Hemoglobune Concentration (concentration corpusculaire moyenne en Hb)
 $(\text{Hb/Hct}) \times 100 \text{ ou } (\text{MCH/MCV}) \times 1000 \text{ (g/l)}$



Anémie

Classification morphologique des anémies

	M C V	M C H	M C H C
Normocytaire normochrome	no	no	no
Microcytaire hypochrome	↓	↓	↓
Macrocytaire normochrome	↗	↗	no



Anémie

3- Numération des réticulocytes

Les réticulocytes sont des érythrocytes en fin de maturation.

Ils sont de plus grande taille et leur cytoplasme contient des résidus d'ARN.

Ils ont quitté la moelle osseuse et circulent dans le sang périphérique en nombre proportionnel à 'activité érythropoïétique médulaire:

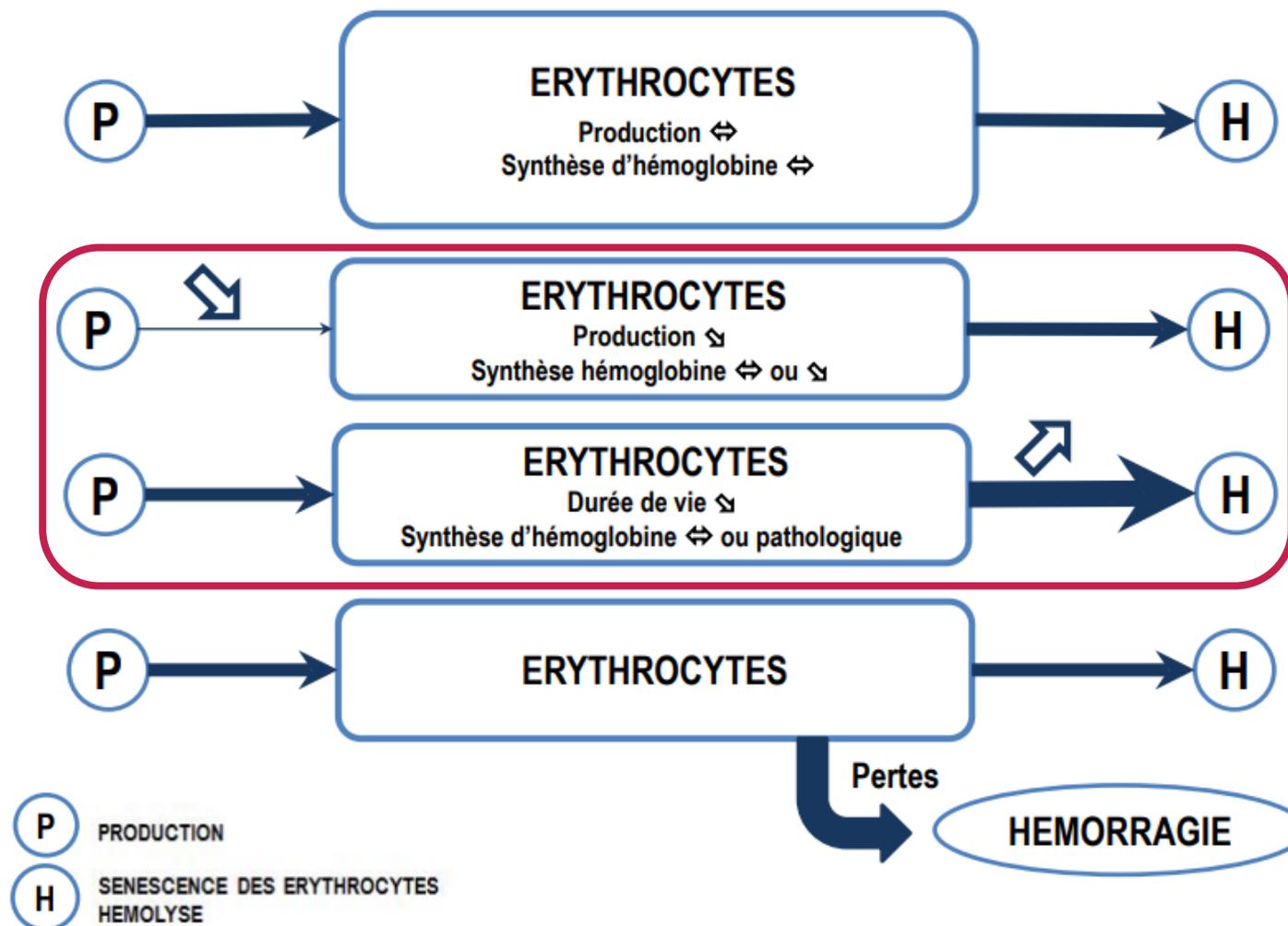
Nombre absolu de réticulocytes:

< 120 G/L : anémie hyporégénérative (anémie Microcytaire, Macrocytaire...)

> 120 G/L : Anémie régénérative (Hémorragie aiguë, anémie hémolytique)

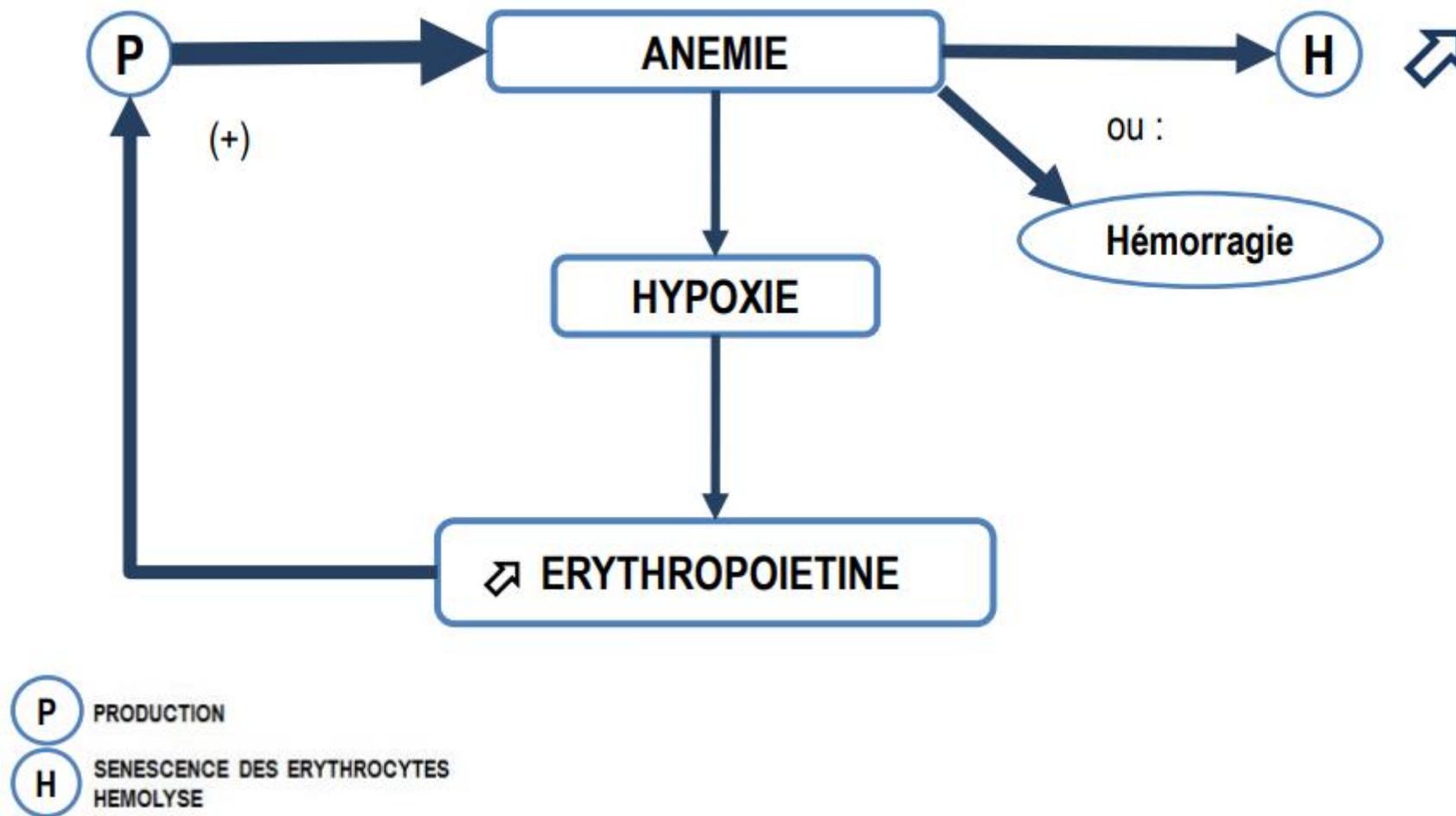


Mécanisme d'anémie



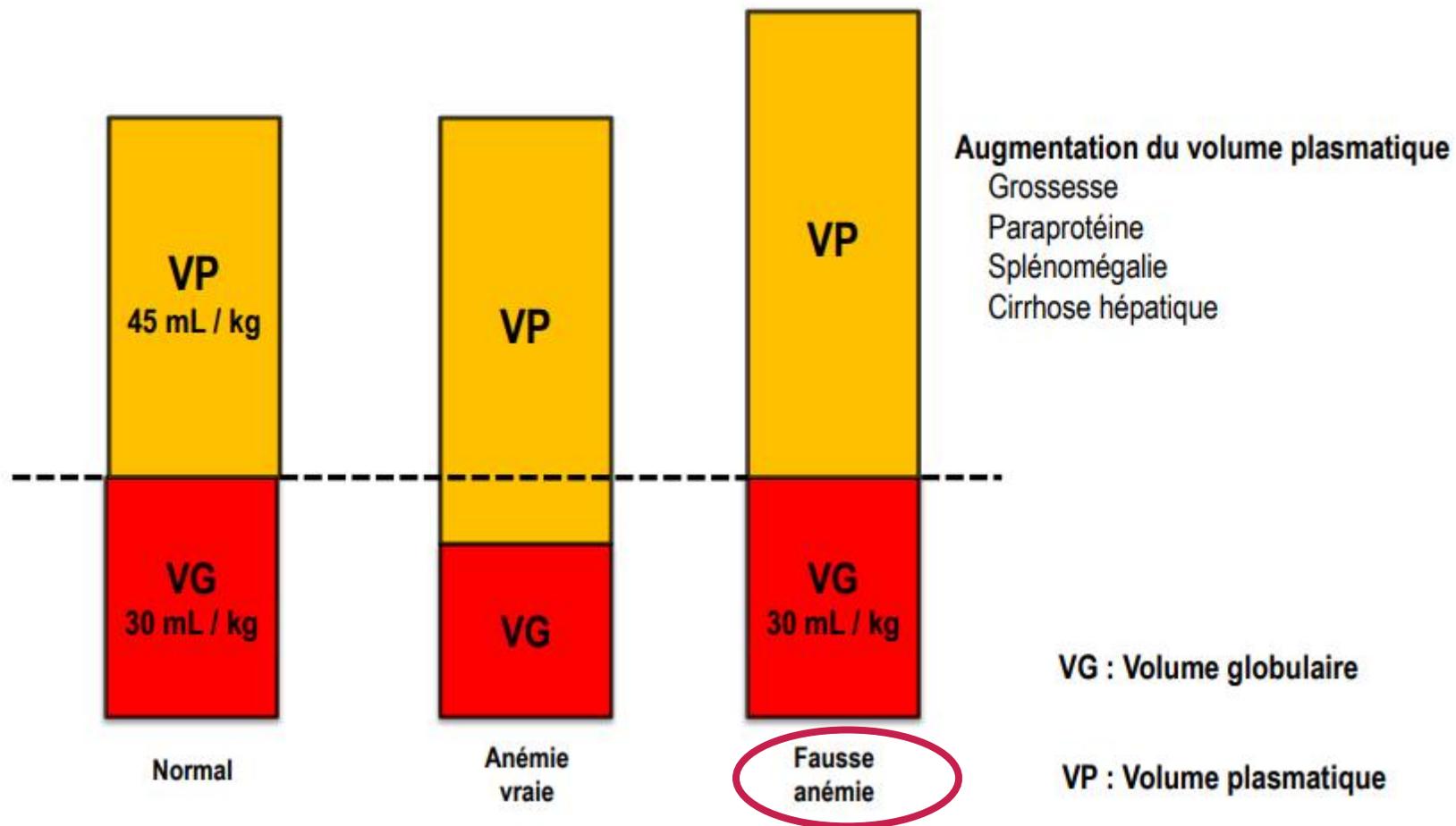


Mécanisme d'anémie





Mécanisme d'anémie





Anémies microcytaïres hypochromes



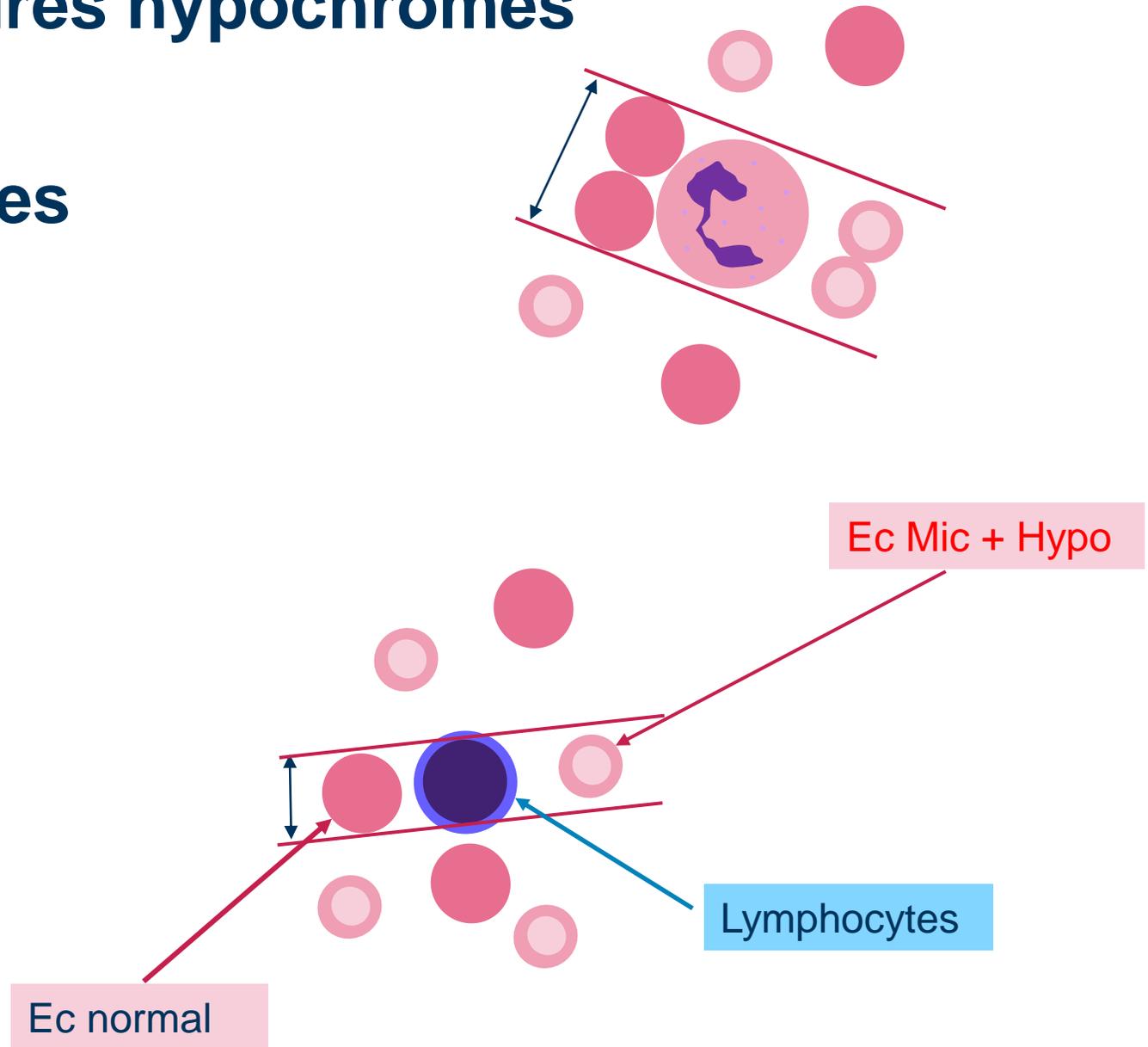


Anémies microcytaires hypochromes

Morphologie des érythrocytes

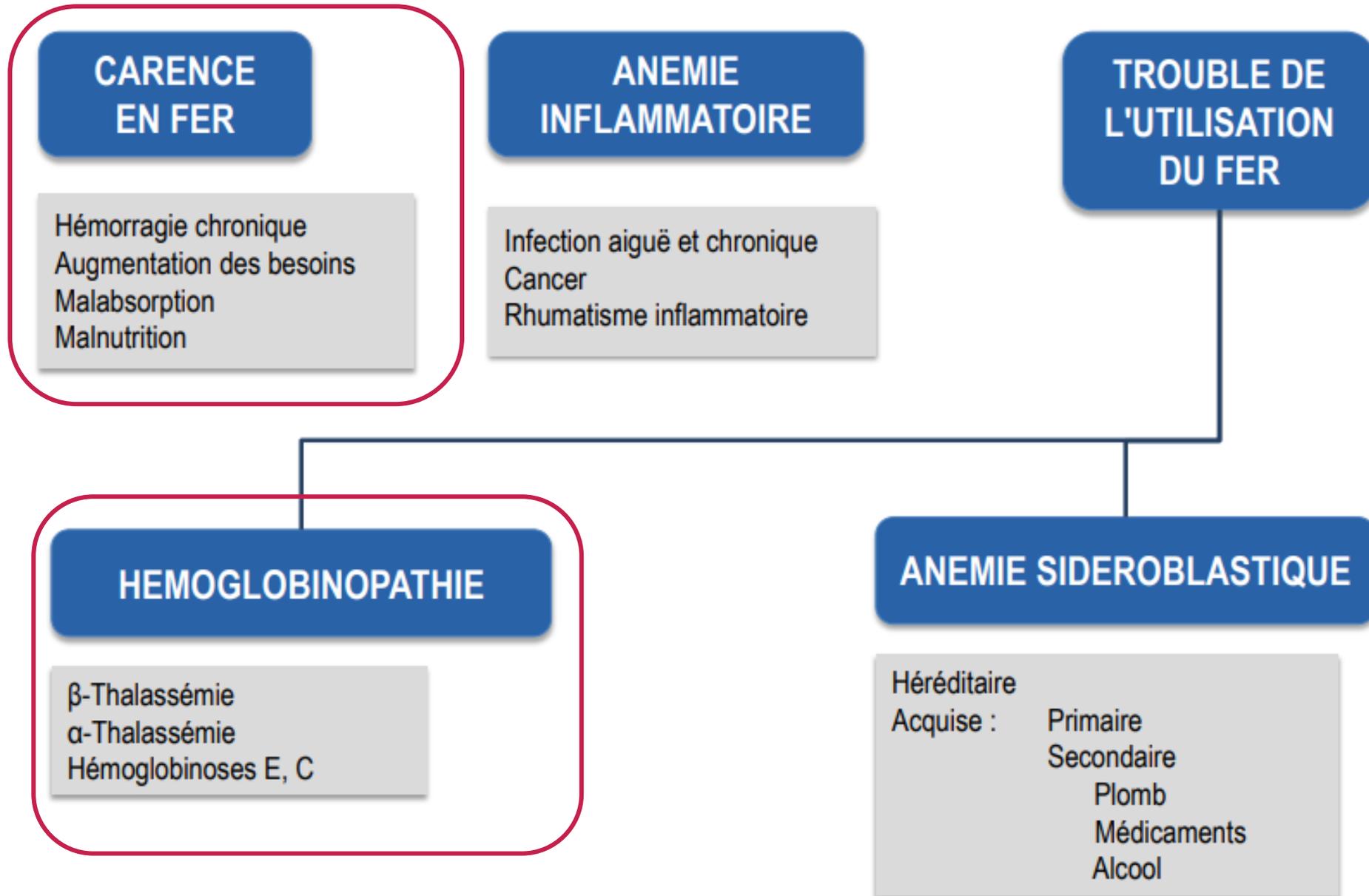
Aspect typique :

- Ec mal remplie → **gros creux**
- Petit Ec





Anémie Microcytaire Hypochrome





Anémie Microcytaire Hypochrome

	FER SERIQUE	TRANSFERRINE	FERRITINE
CARENCE EN FER	↘	↗	↘
ANEMIE INFLAMMATOIRE	↘	↘	↗
TROUBLE DE L'UTILISATION DU FER	↗	no / ↘	↗

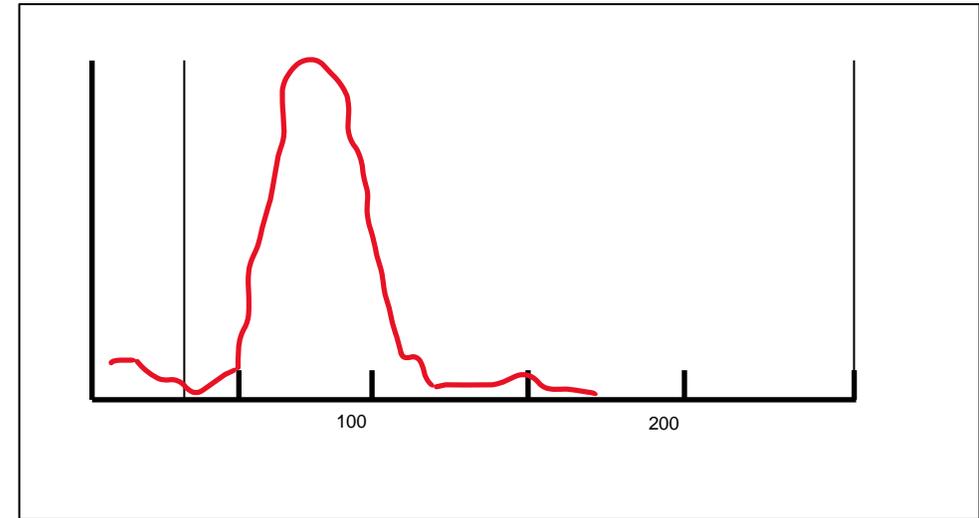


Anémies microcytaires hypochromes

Valeurs et histogramme

Valeurs hématologiques :

- Nombre Ec selon la cause :
 - Une carence en fer diminue ↓
 - La thalassémie augmente ↑
- Hémoglobine abaissée ↓
- Hématocrite abaissé ↓



Histogramme des érythrocytes Microcytose



Anémies microcytaires hypochromes

Indices :

MCV abaissé ↓

MCH abaissé ↓

MCHC normal → abaissé en cas de forte carence en fer ↓



1. anémie ferriprive (acquise)





Anémie ferriprive - étiologie

1- Augmentation de la consommation du Fer:

- Croissance
- Grossesse
- Lactation (lait maternel : 0,3- 0,5 mg/l)

2- Diminution de l'apport en Fer:

- Régime ou trouble alimentaire
- Végétariens, végétaliens

3- Trouble de malabsorption:

Maladie intestinales (Maladie Coéliquaue, Maladie de Crohn)



Anémie ferriprive

Clinique:

- Fatigues, faiblesse
- Peau pâle
- Ongles cassants
- Cheveux fragiles
- Phagades

Thérapie:

- Détermination de la cause
- Substitution de Fer (Oral / Intraveineux)



Ongles cassants



Phagades



Microscopie

- Hypochrome
 - Microcytose
 - Anisocytose (RDW)
 - Ovalocytes
 - Anulocytes
- Numération des globules blancs normale



Carence en fer, Dr Risch, 2022



Diagnostic différentiel

- Des inflammations / Des infections chronique



Ferritine élevée !



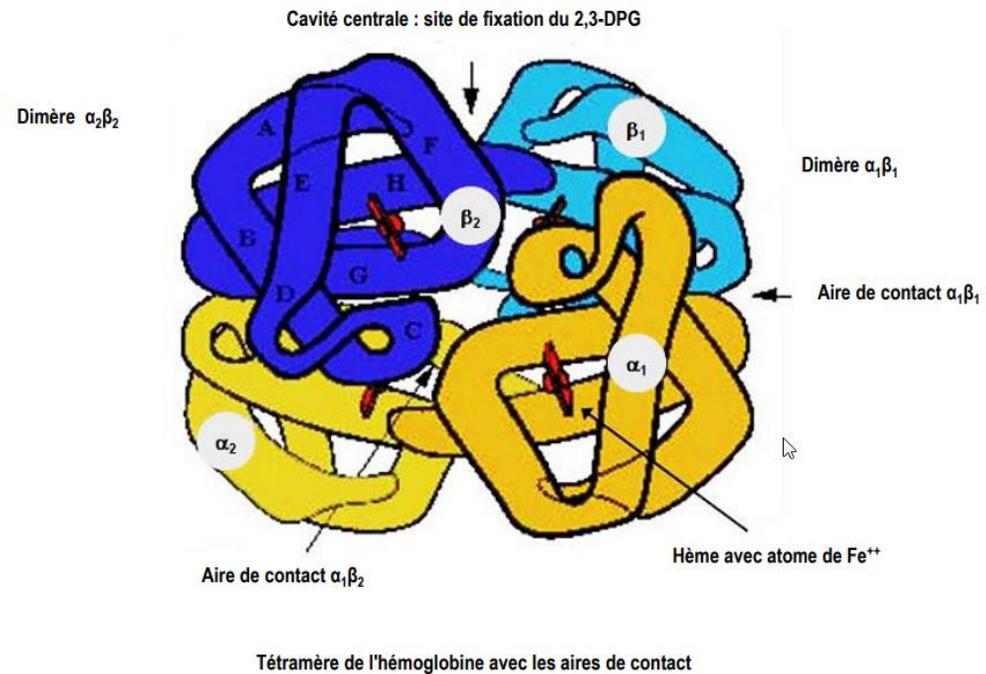
2. Thalassémie (héréditaire)





Thalassémie

- Définition:
Défaut de synthèse de la globine.





Thalassémie

– Définition:

Défaut **de synthèse de la globine.**

- Alpha-Thalassémie:
 - Diminution de la sythèse des chaines **Alpha** de la globine (mineure- majeure)
- Béta-Thalassémie:
 - Diminution de la sythèse des chaines **Béta** de la globine (mineure- majeure)



Thalassémie

– Définition:

Défaut **de synthèse de la globine.**

→ Transmission autosomique récessive.

- Thalassémie mineure = hérédité **hétérozygote**
- Thalassémie majeure = hérédité **homozygote**



Thalassémie



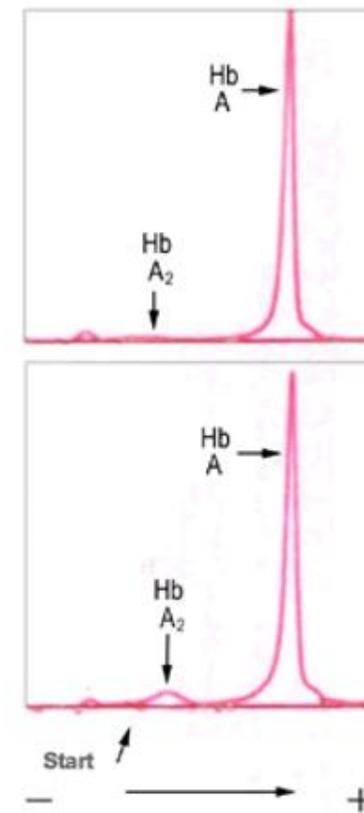
- Présence
fréquence géographique dans les pays méditerranéens



Thalassémie

– Laboratoire:

- Hémogramme pathologique
- Electrophorèse pathologique de l'hémoglobine
- Détection génétique des mutations
- Augmentation de la LDH



Normalperson
Hb A₂ = 2%

Beta Thalassämie
Träger
Hb A₂ = 9%

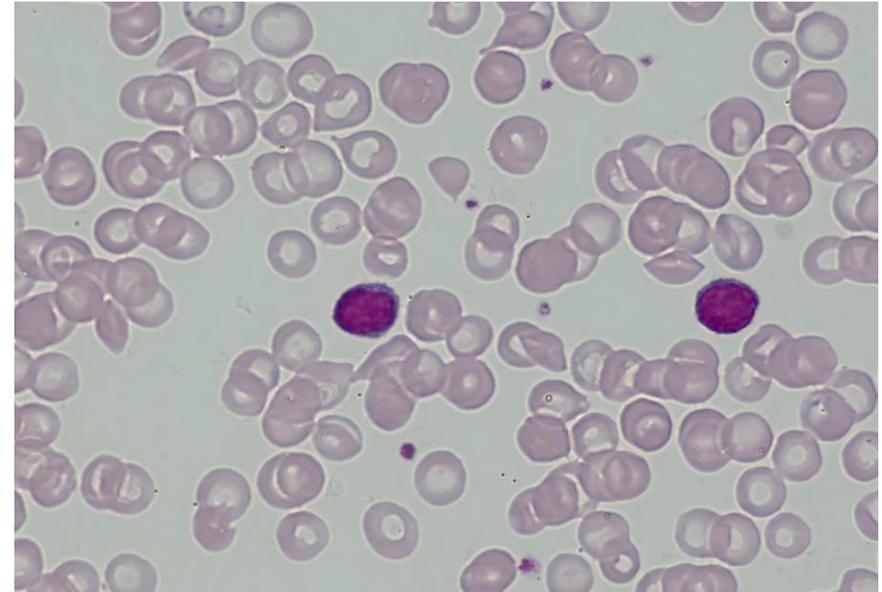


Microscopie de la thalassémie **mineure**

- Anémie légère à modérée (100-120 g/l)
- Hypochrome
- Microcytose
- Aniso- et poïkilocytose
- Ponctuation basophile

Pronostic favorable

Le plus souvent sans traitement / thérapie



Thalassémie mineure, Dr Risch, 2022



Microscopie Thalassémie majeure

- Forte anémie (50-70 g/l)
- Hypochrome
- Fortement microcytaire
- Forte anisocytose et poïkilocytose
- Ponctuation basophile grossière
- Cellules cibles
- Érythroblastes
- Déplacement vers la gauche jusqu'au myéloblaste



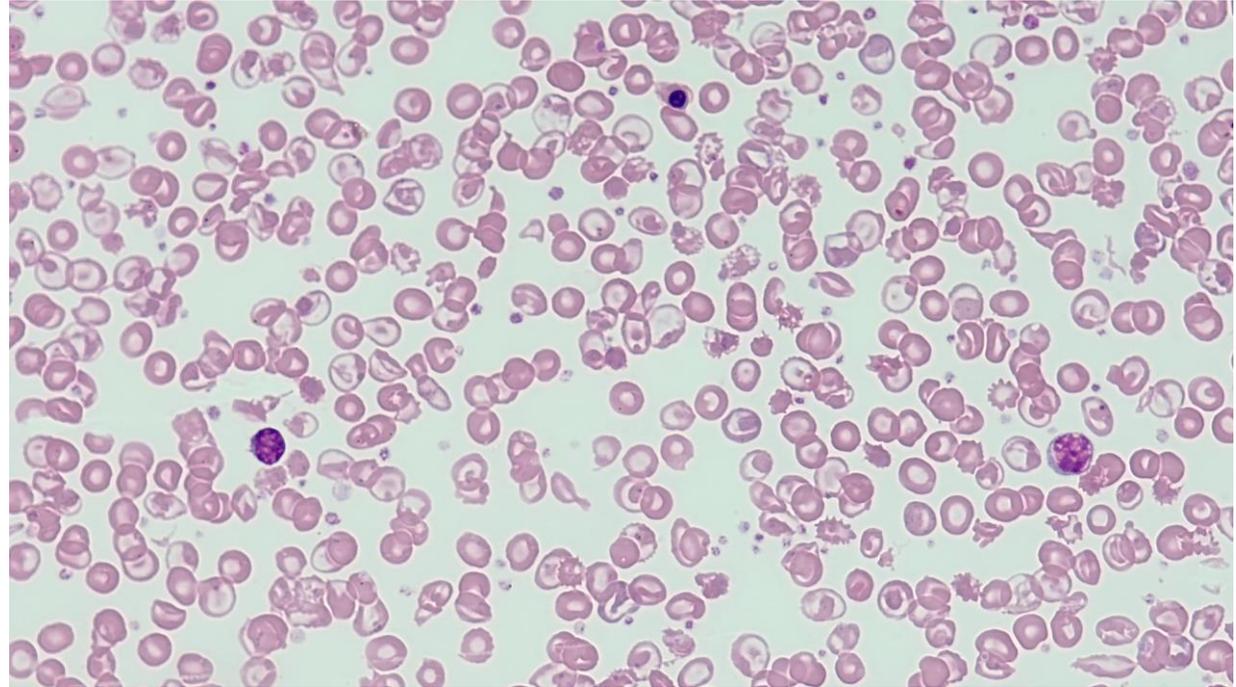
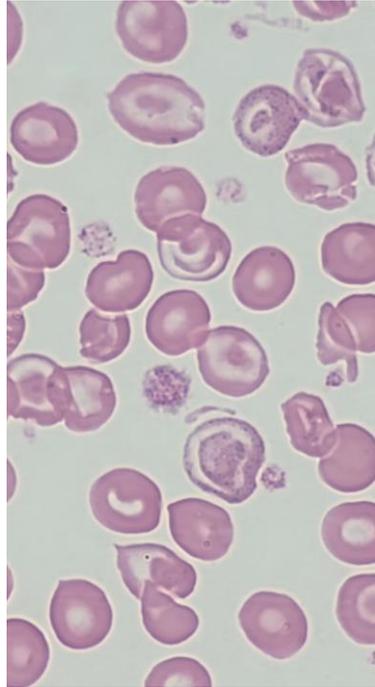
Microscopie Thalassémie **majeure**

- **Pronostic défavorable:**
 - Les érythrocytes s'hémolysent beaucoup plus rapidement que la normale.
 - Ictère, retard de croissance, baisse de l'hémoglobine, les patients reçoivent en permanence des concentrés d'érythrocytes, hémosidérèse, décès.



Microscopie Thalassémie **majeure**

- **Thérapie:**
 - Concentrés d'érythrocytes (entraîne une hémochromatose secondaire)
 - Transplantation de moelle osseuse
 - Transplantation de cellules souches



Thalassémie majeure, Dr Risch, 2022



3. Mentzer-Index





Indice de Mentzer

**Indice de Mentzer =
MCV (fl) divisé par le nombre d'érythrocytes (T/L)**

valeurs <13

→ Indiquent une thalassémie

valeurs >13

→ en revanche, indiquent plutôt une anémie ferriprive ou une anémie de maladie chronique



Exemple de l'indice de Mentzer

Paramètres	Résultat	Unité de mesure	Évaluation
Leucocytes	5.90	G/l	
Érythrocytes	5.13	T/l	+
Hémoglobine	9.4	g/dl	-
Hématocrite	31.4	%	-
MCV	61.2	fl	--
MCH	18.3	pg	-
MCHC	29.8	g/dl	-
Plaquettes	358	G/l	

MCV / Erc = 11,9

→ Une thalassémie

Anémie ferriprive ou thalassémie mineure ?



Take Home Message

Différence carence en fer / thalassémie

- Index Mentzer
- En cas de thalassémie, nombre d'érythrocytes généralement élevé (environ 6,0 T/l)
- Taux de ferritine dans le sérum



Anémies macrocytaires



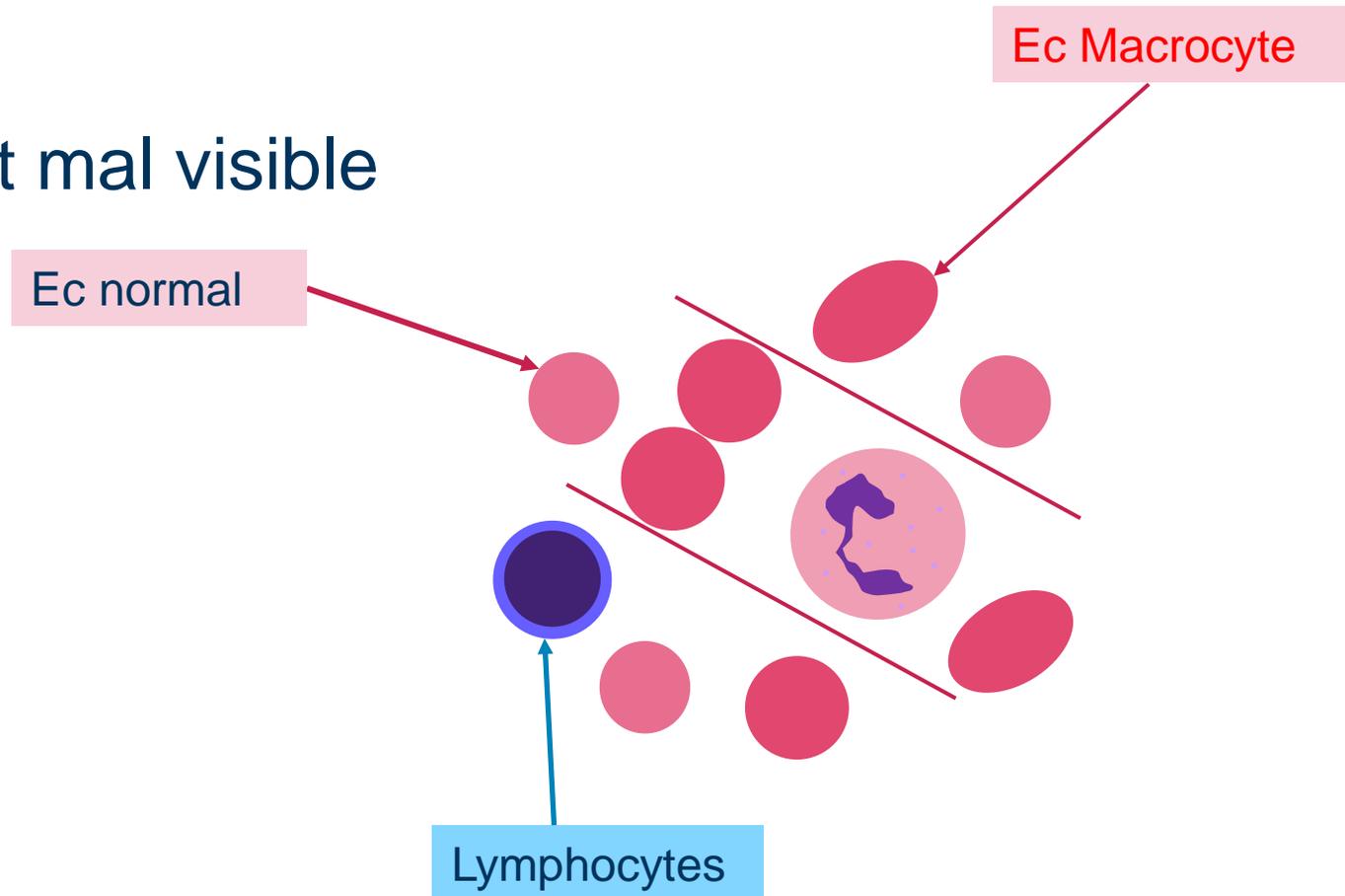


Anémies macrocytaire

Morphologie des érythrocytes

Aspect typique :

- Ec bien remplie → creux plutôt mal visible
- Grand Ec :
 - grand et rond = macrocyte
 - grand et ovale = mégalocyte





Classification - causes:

Anémie macrocytaire mégaloblastique (MCV > 110 fl)

Manque de vitamine B12, B9, anémie pernicieuse (autoimmune).

- B12 et B9 ont un rôle dans le métabolisme de la synthèse de l'ADN
- Diminution du nombre des mitoses
- Augmentation de la taille des cellules

Anémie macrocytaire non mégaloblastique (MCV < 110 fl)

Alcoolisme

- Lésions du foie





	VITAMINE B ₁₂	FOLATES
Alimentation équilibrée (/j)	7 – 30 µg	200 – 250 µg
Besoins quotidiens	1 – 2 µg	100 – 150 µg
Origine	Animale	Légumes, levure, foie
Cuisson	Peu d'effet	Thermolabile
Réserves	2 – 3 mg	10 – 12 mg
Epuisement des réserves	2-4 ans	3-4 mois
Absorption		
Site	Iléon	Jéjunum
Mécanisme	Facteur intrinsèque (FI)	Conversion en méthyltétrahydrofolate
Transport	<p>Transcobalamines (TC) TC I et III ou haptocorrines ou protéines R : <i>Liaison aux protéines alimentaires puis transport des cobalamines</i> TC II : <i>transport et transfert intracellulaire des cobalamines</i></p>	Albumine
Formes physiologiques actives	Méthyl- et déoxyadénylcobalamines	Polyglutamates
Dérivés utilisés lors de substitution thérapeutique	Hydroxocobalamine Cyanocobalamine	Acide folique (ptéroylglutamique)
Valeurs physiologiques (sérum)	133 – 675 pmol / L ¹	7,0 – 45,1 nmol / L ¹

¹ LCC-CHUV, 2012



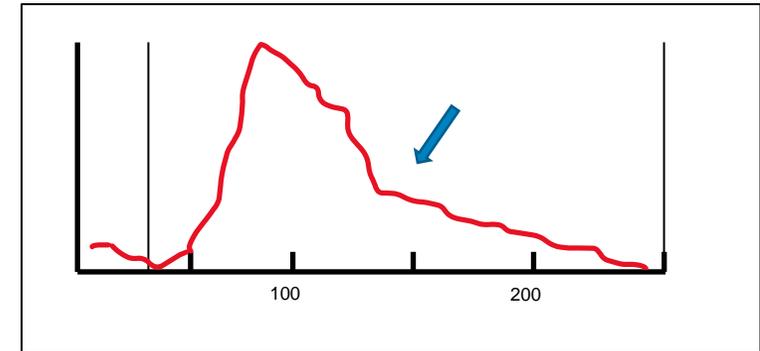
Anémies macrocytaire

Valeurs et histogramme

Valeurs et histogramme

Valeurs hématologiques :

- Nombre Ec abaissé
- Hémoglobine abaissée
- Hématocrite abaissée



Histogramme des érythrocytes Macrocytose



Anémies macrocytaire

Indices :

MCV augmente ↑

MCH augmente ↑

MCHC normal N



Anémies macrocytaire



Inflammation de la langue :
Glossite de Hunter en cas d'anémie pernicieuse (par manque de la vitamine B12)



Anémies macrocytaire

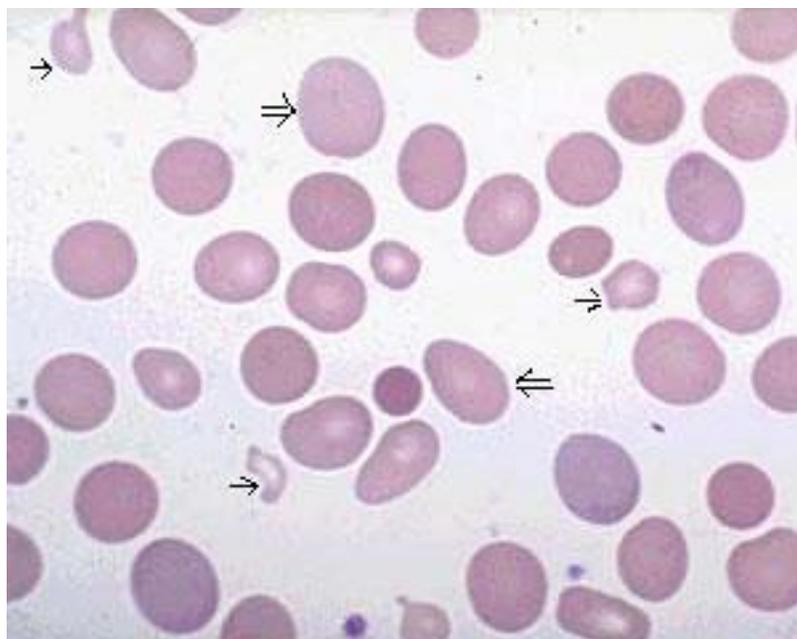
Thérapie:

- Détermination de la cause
- Substitution de vitamine B12 / B9 par voie orale ou parentérale



Anémies marocytaire

Microscope:



Mégaloblastes



Neutrophiles
hypersegmentés



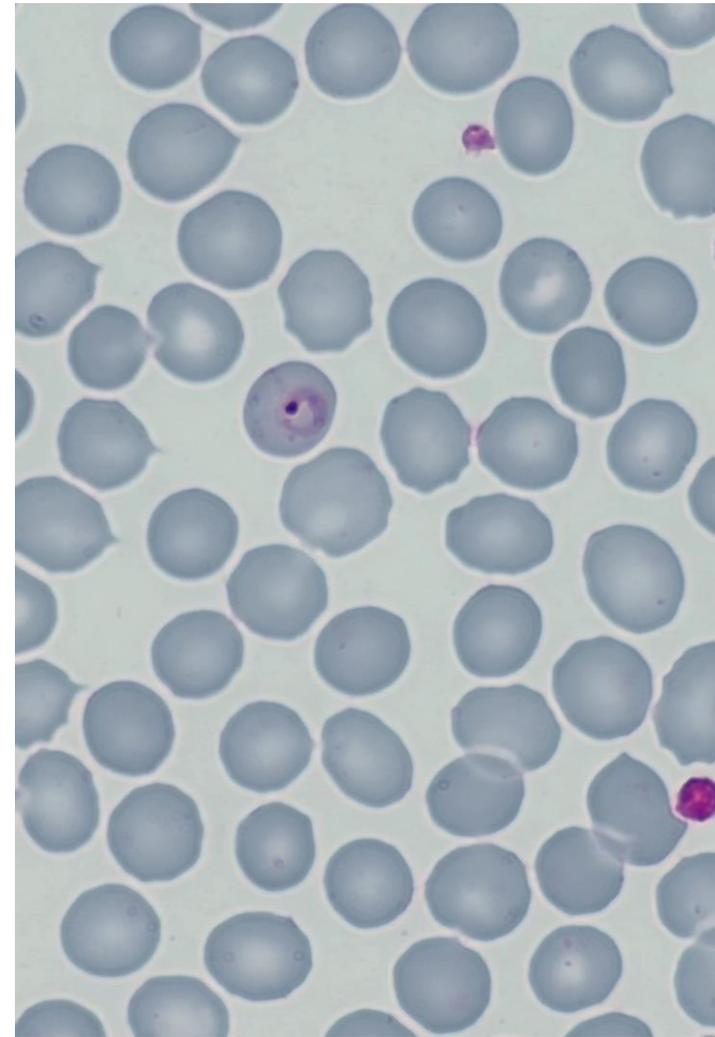
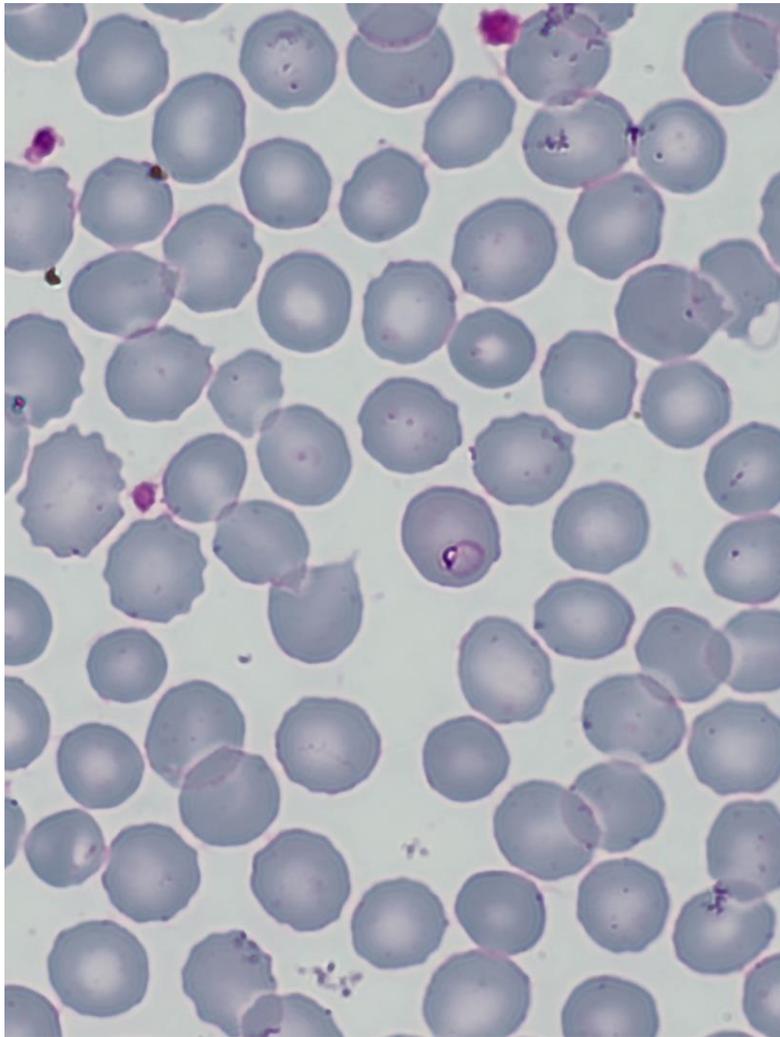
Paludisme





Faits

- Maladie tropicale
- Agent pathogène du paludisme : Plasmodium
- Symptômes de type grippal
- Détection par goutte épaisse et frottis sanguin
- Eventuellement anémie hémolytique
- Plaquettes ↓
- Leucocytes ↓



Malaria Plasmodium falciparum, Dr Risch, 2022



Pathologies leucocytaires





Déplacement vers la gauche

Sujet sain:

- Dans le sang périphérique, on ne trouve que des neutrophiles à noyau en bâtonnets ou en segments.
- La proportion de polynucléaires en bâtonnets ne doit pas dépasser 16% des leucocytes.

Déplacement vers la gauche:

- Présence accrue de neutrophiles à noyau en **bâtonnet** au-delà de 16% des leucocytes et/ou de l'apparition de **leurs précurseurs** dans le sang périphérique.
- Différentes causes peuvent expliquer la mobilisation accrue des réserves de la moelle osseuse pour augmenter l'épanchement de cellules immatures de la granulopoïèse dans le sang périphérique.



Déplacement vers la gauche

Causes possibles :

- Infections bactériennes
- Grossesse
- Inflammations non infectieuses
- Tumeurs
- Nécroses des tissus



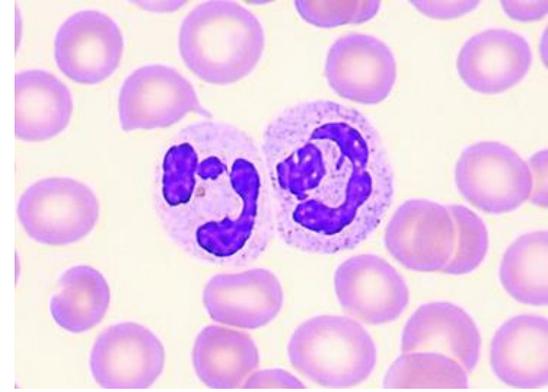
Déplacement vers la gauche

Microscope:

- Nucléaires en bâtonnets (non ségmentées)
- Métamyélocytes ou myélocytes isolés
- Rarement des promyélocytes ou des blastes
- Leucocytes et nombre total de neutrophiles souvent élevés
- Signes toxiques tels que granulation grossière, vacuoles ou stries basophiles dans le cytoplasme



Microscope



Les neutrophiles ont généralement un contour régulier et un cytoplasme gris-clair à rose.

Leur diamètre est de 14 μm .

Les granulations sont très fines, rouge-violettes à brunes.

Le noyau est allongé avec des zones de rétrécissement.

Intervalles de référence:

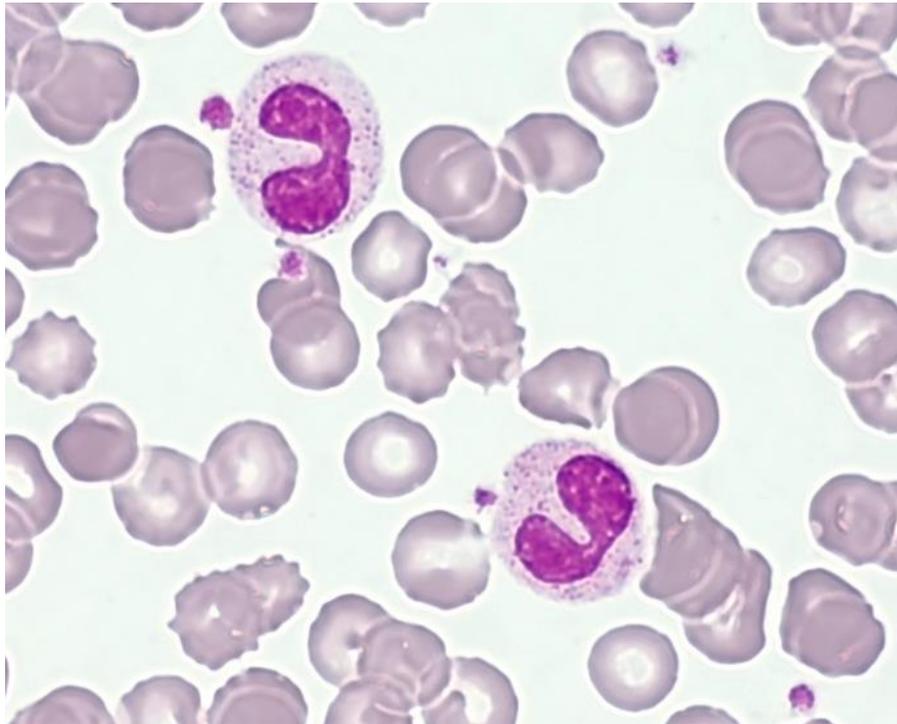
Chez le sujet sain, le nombre de neutrophiles est compris entre 1.6 et 7.4 G/L.

En-dehors de ces valeurs, on parle de neutropénie (diminution des neutrophiles) ou de neutrophilie (augmentation des neutrophiles).

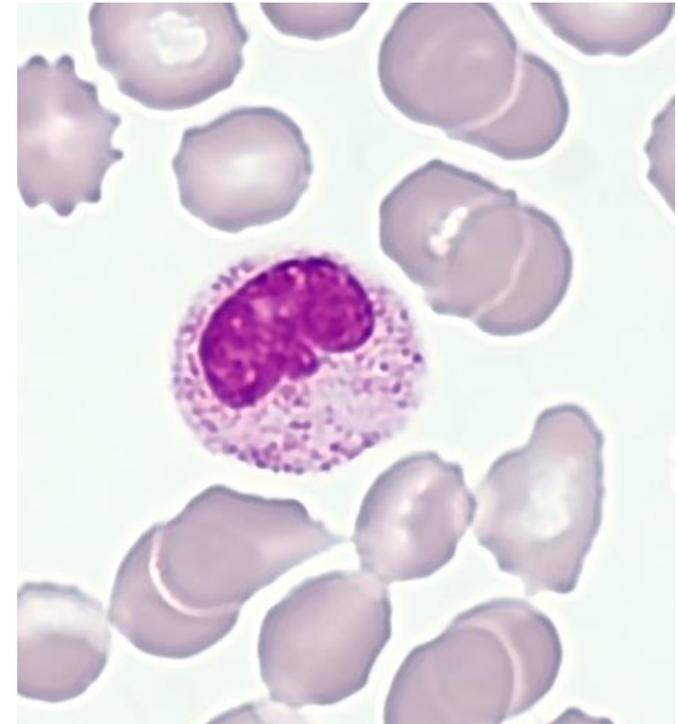
L'agranulocytose, définie par un nombre de neutrophiles inférieur à 0.5 G/L, est responsable d'une susceptibilité accrue à des infections bactériennes sévères, souvent létales.



Neutrophiles bâtonnets (non ségmentées)



Bâtonnet



Bâtonnet



Ségmentation

On distingue les neutrophiles segmentés des neutrophiles non segmentés en fonction de l'aspect du noyau.

Il existe **deux manières différentes** de faire cette distinction.

Un neutrophile segmenté est caractérisé par:

1. Première manière: un noyau présentant un aspect filiforme entre 2 lobes (règle du fil).
2. Deuxième manière: un noyau présentant un rétrécissement inférieur au 1/3 de son diamètre le plus large (règle du 1/3).

→ Selon la manière choisie, les résultats sont différents.

Le rapport: neutrophiles non segmentés / neutrophiles segmentés est :

- De 1/4 selon la règle du fil «**16%**»
- De 1/12 selon la règle du 1/3 «**8%**»

→ On parle de déviation à gauche lors d'augmentation des neutrophiles non segmentés, de déviation à droite en cas d'excès de neutrophiles hypersegmentés.



Déplacement vers la gauche

Les neutrophiles bâtonnet:

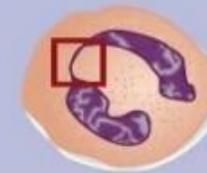
→ **Règle du fil**

- Selon mqnet.ch
- Intervalle de référence :
> 16% des leucocytes

Règle du fil

Définition du noyau segmenté

Au moins une des connexions entre les segments du noyau a la forme d'un fil.



sans structure de Chromatine



avec structure de Chromatine

Important à savoir

Important à savoir

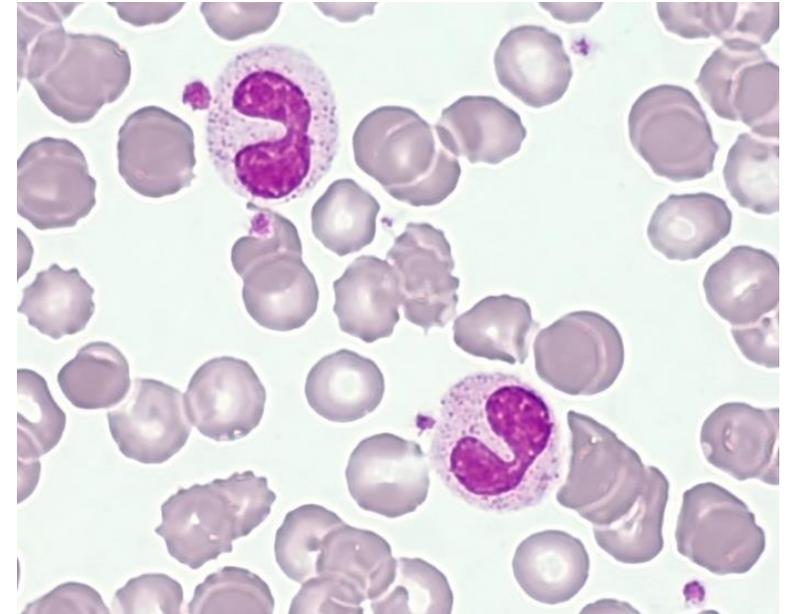
- Aucune structure de chromatine ne doit apparaître dans le fil
- Le noyau de la cellule peut être plié de sorte qu'un fil existant n'est plus reconnaissable
- La valeur de référence du segment pour la méthode du fil est de 0 à 16%



Déplacement vers la gauche

Les neutrophiles bâtonnet:

- Règle du tiers :
 - La partie la plus mince représente le $\frac{1}{3}$ de la partie la plus large.
 - Intervalle de référence : **> 8%**



Bâtonnet



Les lymphocytes





Classification des lymphocytes

Lymphocytes typiques:

- Lymphocytes standard
- Cellules LGL
- Lymphocytes CLL



Classification des lymphocytes

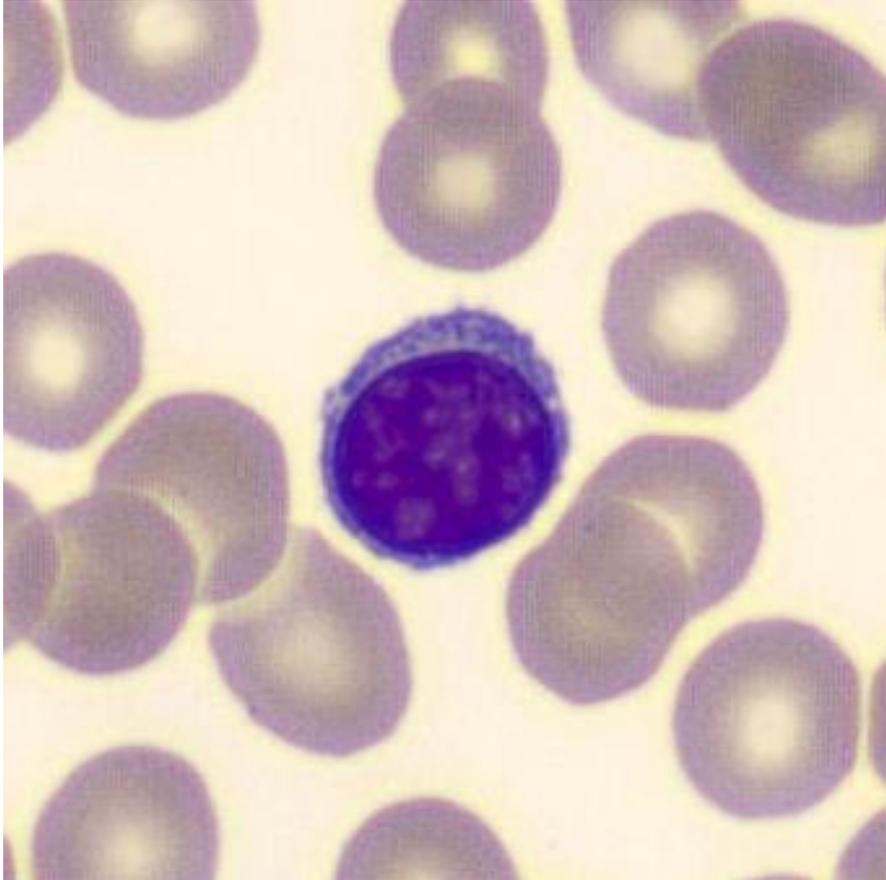
Lymphocytes atypiques:

- Lymphocytes atypiques probablement réactifs (Infections virales)
- Lymphocytes atypiques pathologie peu claire, envoi au laboratoire externe (Processus néoplasiques)

Lymphocytes présentant une morphologie différente.



Lymphocytes standard



Taille

Diamètre des cellules : env. 10um

Diamètre du noyau : env. 7um

Noyau

Rond à légèrement ovale

chromatine nucléaire

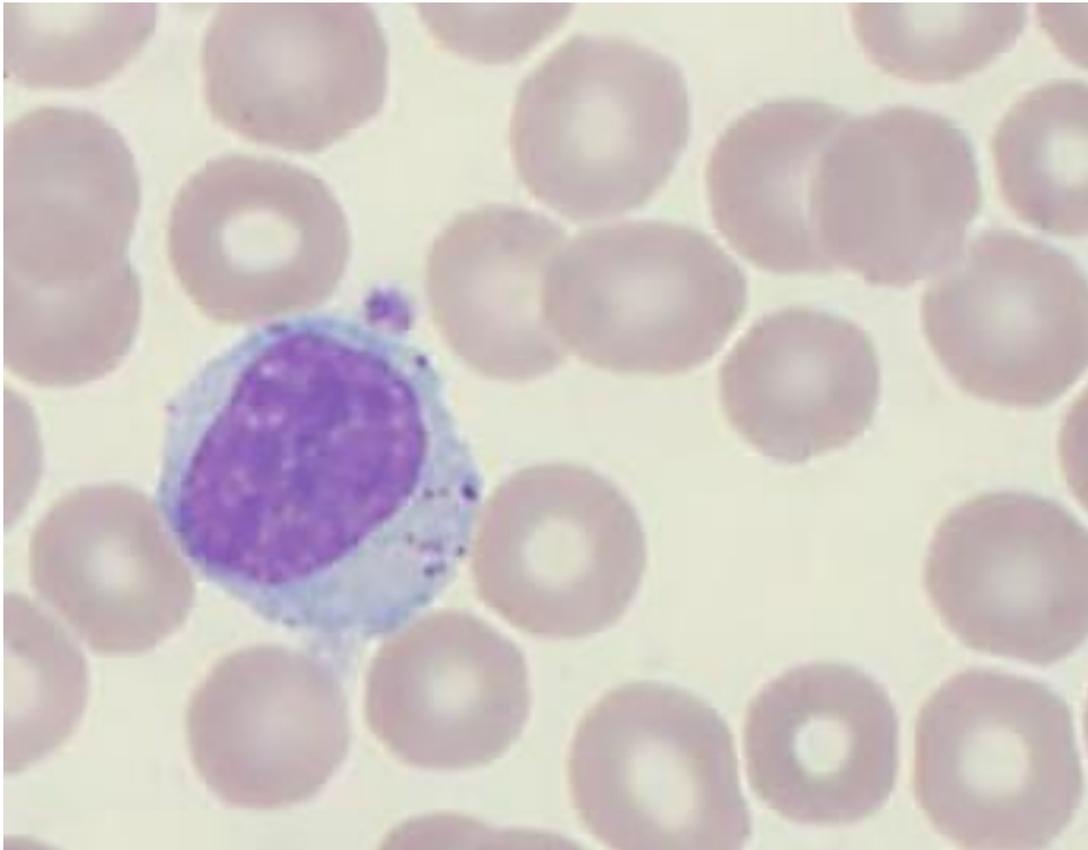
Dense à grossièrement bulbeuse, pas de nucléoles

cytoplasme

Etroit, basophile clair à limite lisse



Lymphocyte standard : cellules LGL



Grand lymphocyte granulaire

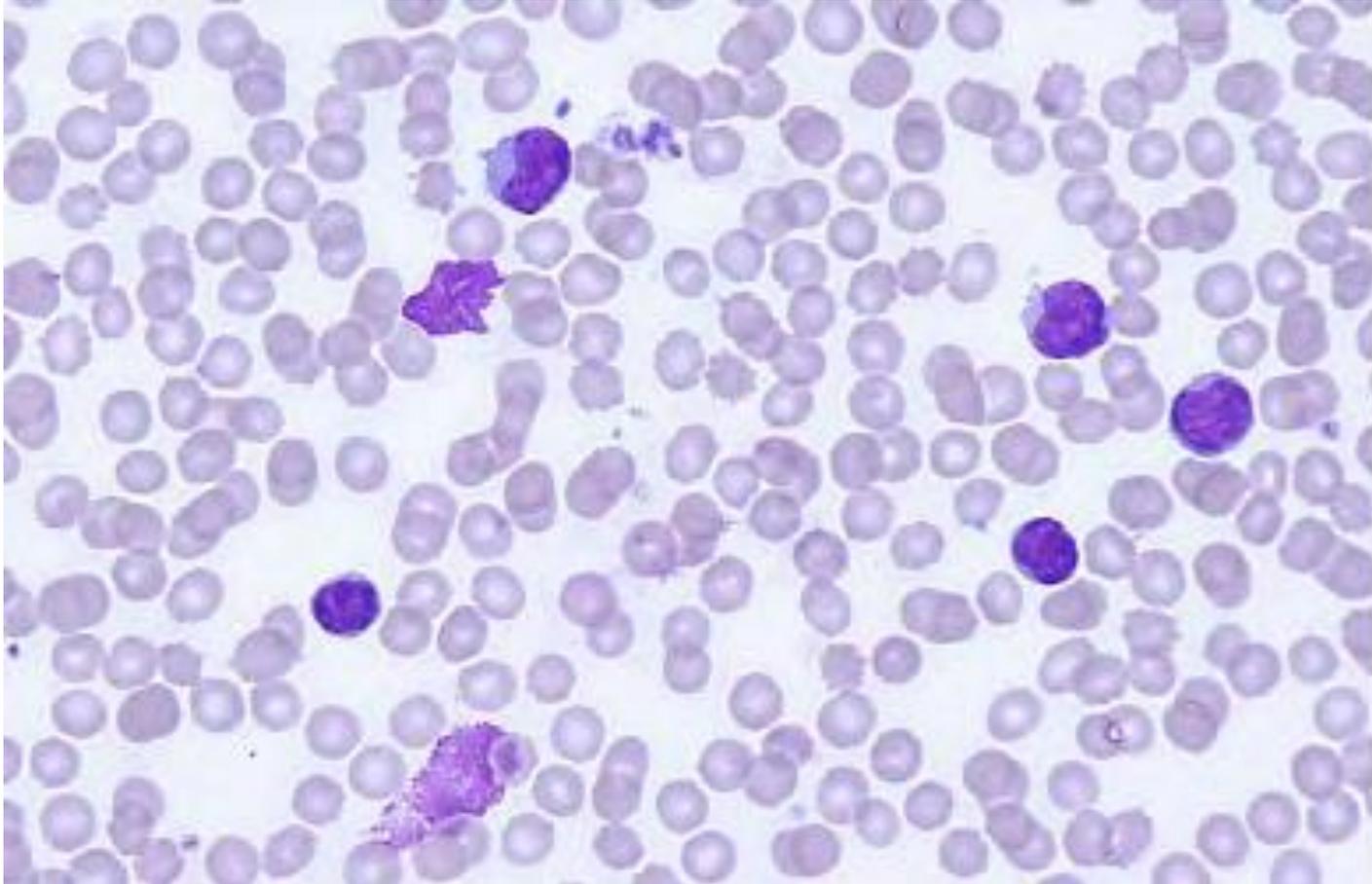
10-14 μm

Cytoplasme clair basophile et large,
granulation peu grossière, irrégulièrement répartie,
azurophile

- Normal si $< 10\%$
- Pathologique si $> 10\%$ → mentionner dans le commentaire



Lymphocyte standard : lymphocytes LLC



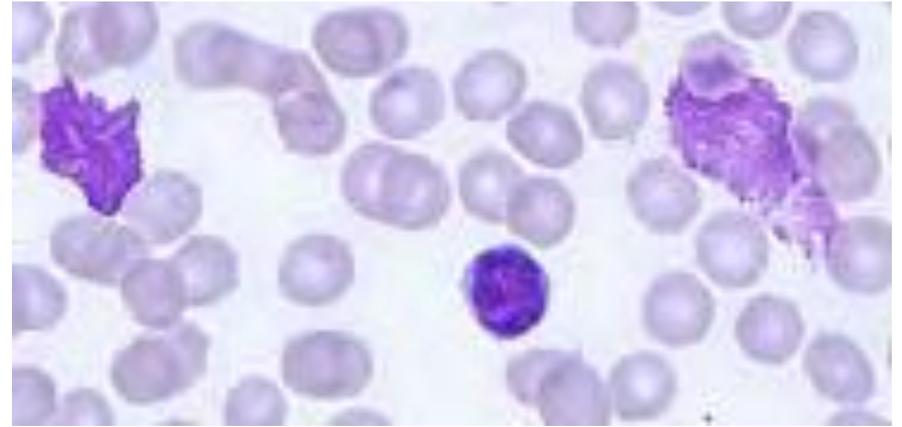
Correspondent morphologiquement en grande partie aux lymphocytes standard

Les différences sont

- Généralement cellule légèrement plus grande 7-14um
- Chromatine nucléaire très dense, grossièrement bulbeuse



Cellules lésées

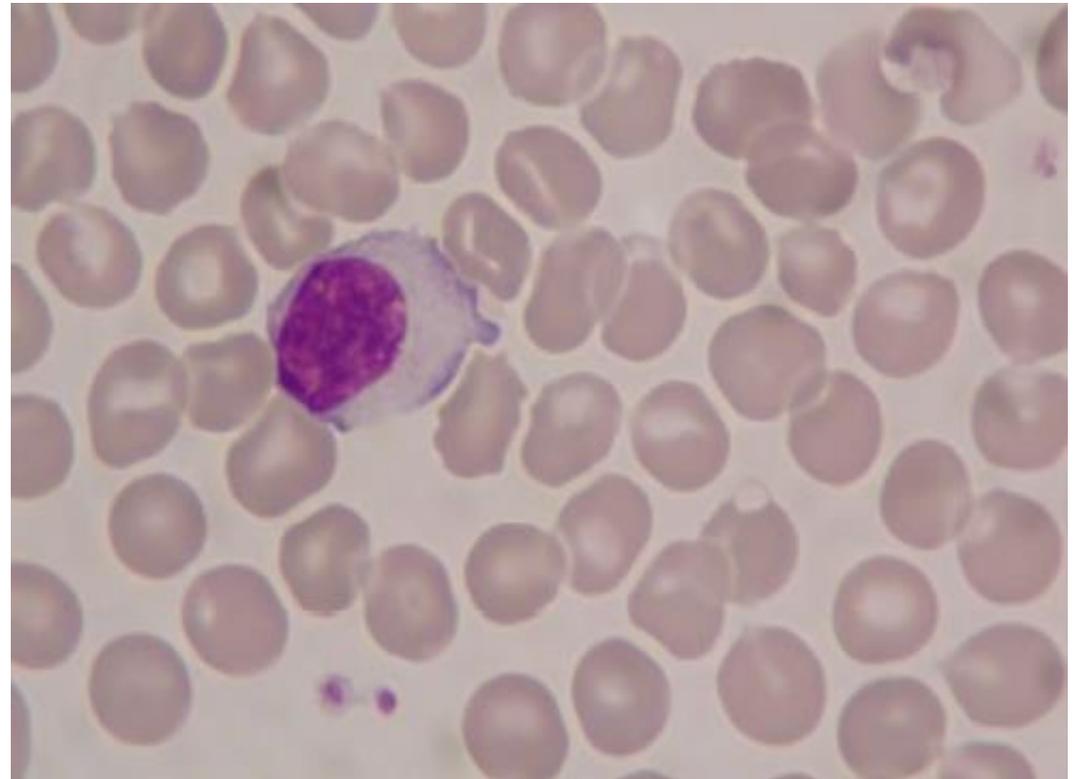
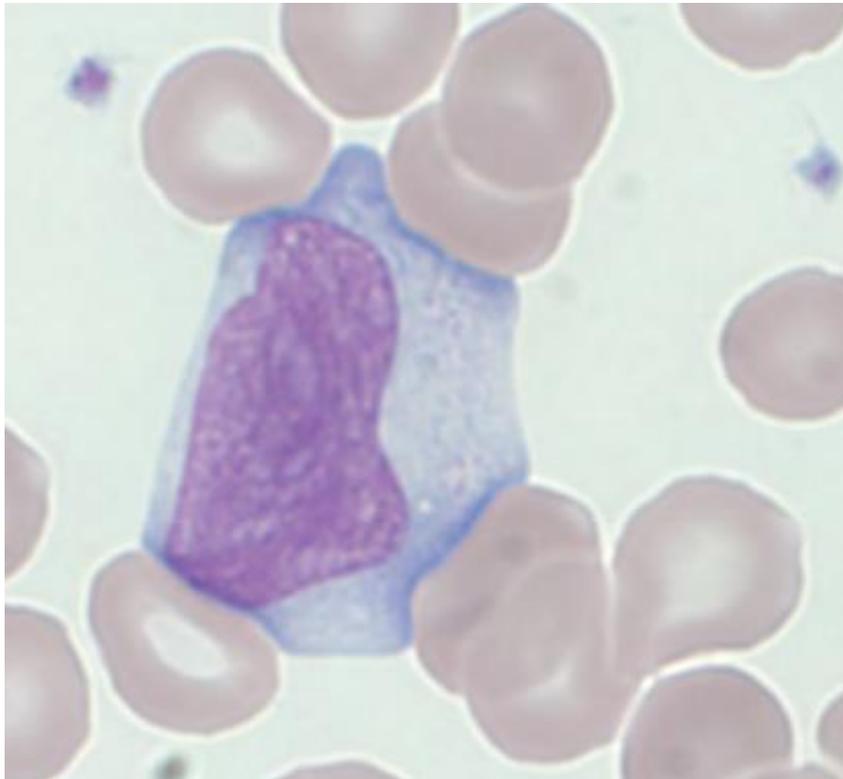


- Les cellules lésées sont comptées comme une population séparée et donnent avec les autres types de leucocytes 100%.
- Pour calculer les valeurs absolues des lymphocytes, il faut utiliser la somme des cellules endommagées et des lymphocytes.



Lymphocytes atypiques

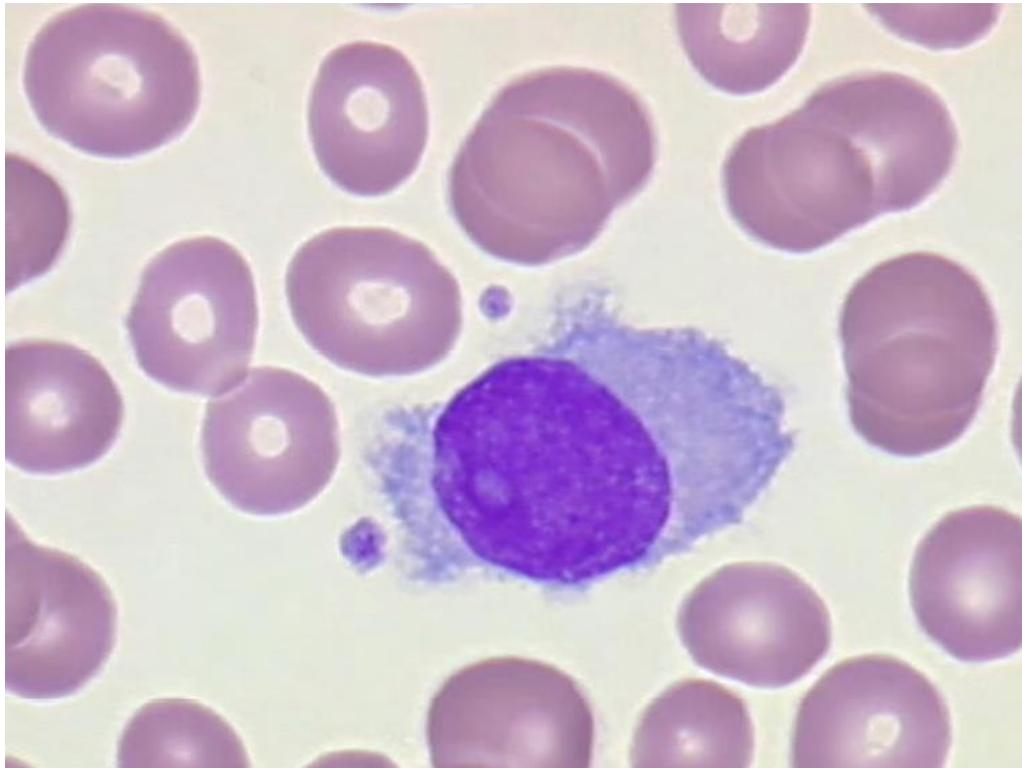
Atypique probablement réactif





Lymphocytes atypiques

Atypique probablement néoplasique





Feuille de protocole de microscopie

- Si des lymphocytes standard et atypiques sont présents dans l'hémogramme : Indiquer en plus une évaluation semi-quantitative de + à +++.
- Les lymphocytes atypiques sont décrits
- Les formes atypiques font l'objet d'une évaluation finale "probablement réactif" ou "pathologie peu claire, à envoyer au laboratoire externe".



Lymphocytose réactionnelle





Lymphocytes réactionnelle

Une lymphocytose réactive est une augmentation absolue du nombre de lymphocytes ($> 5 \text{ G/l}$).

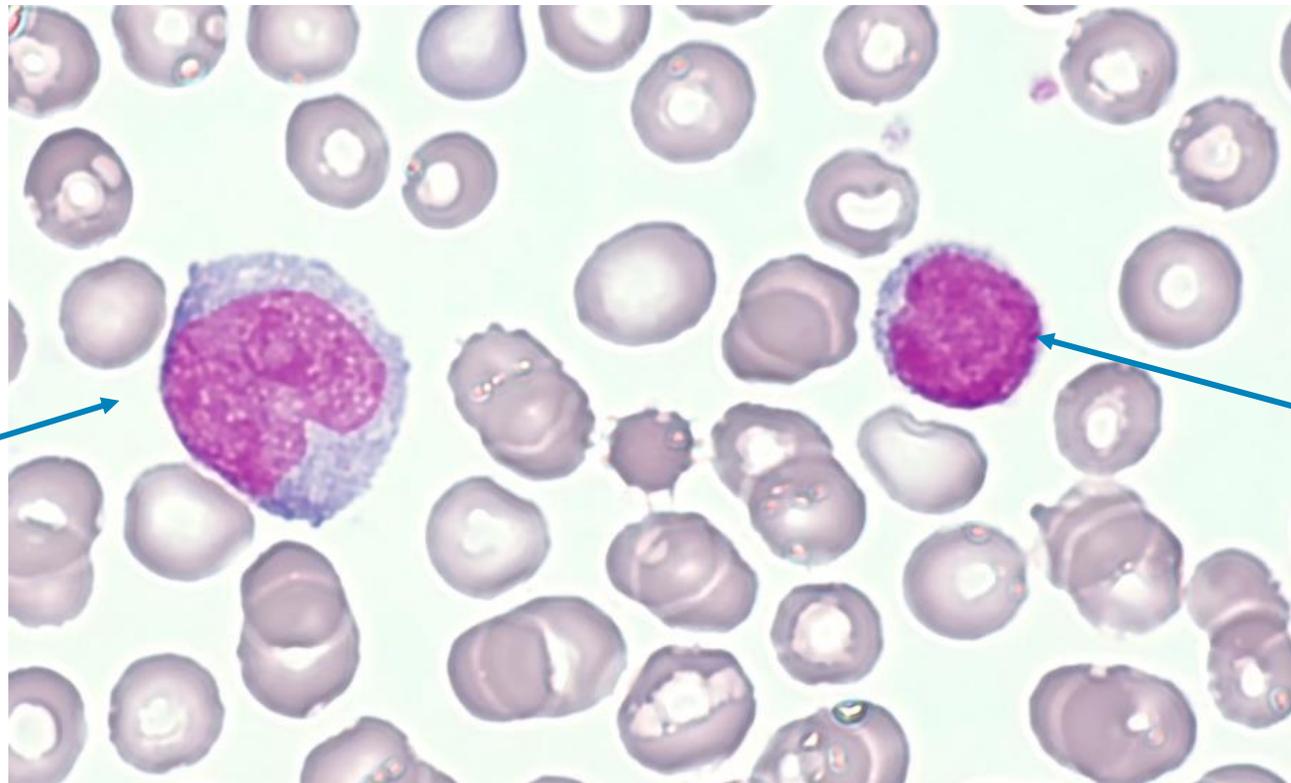
Les lymphocytoses réactives ou secondaires sont causées par des déclencheurs externes tels que les infections virales.

Après la disparition de l'infection, la lymphocytose disparaît à nouveau, c'est-à-dire qu'elle est réversible.



Lymphocytes réactionnelle

Microscope:



Lymphocyte réactif

Lymphocyte normal



Lymphocytes réactionnelle

Microscope:



- Modifications morphologiques des lymphocytes réactifs :
 - Augmentation de la taille des cellules
 - Forme du noyau modifiée : ovale, bombée, contours du noyau irréguliers
 - Basophilie cytoplasmique, coloration la plus forte sur les bords et zone éclaircie près du noyau en partie des nucléoles
 - Le cytoplasme entoure souvent les érythrocytes



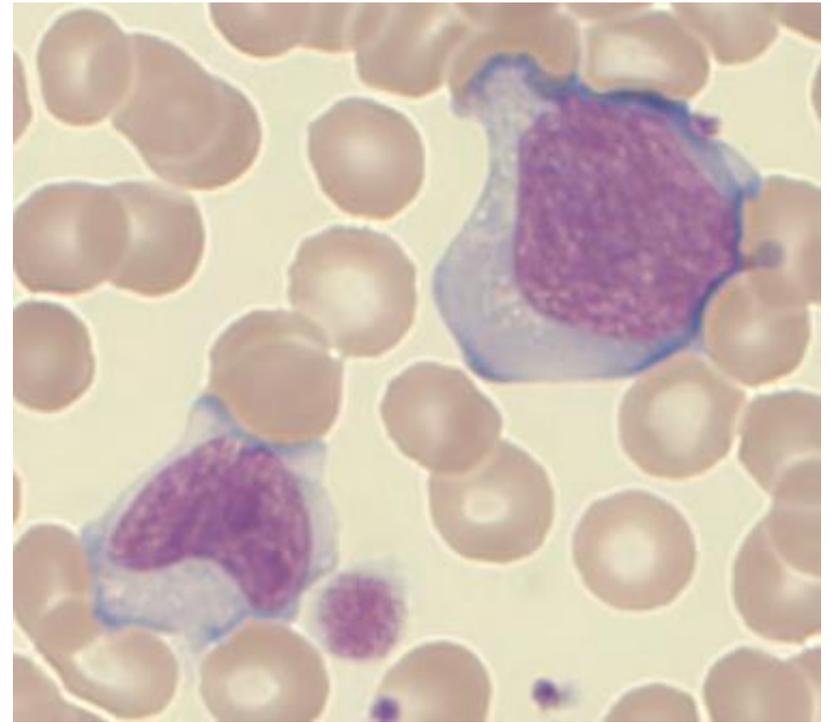
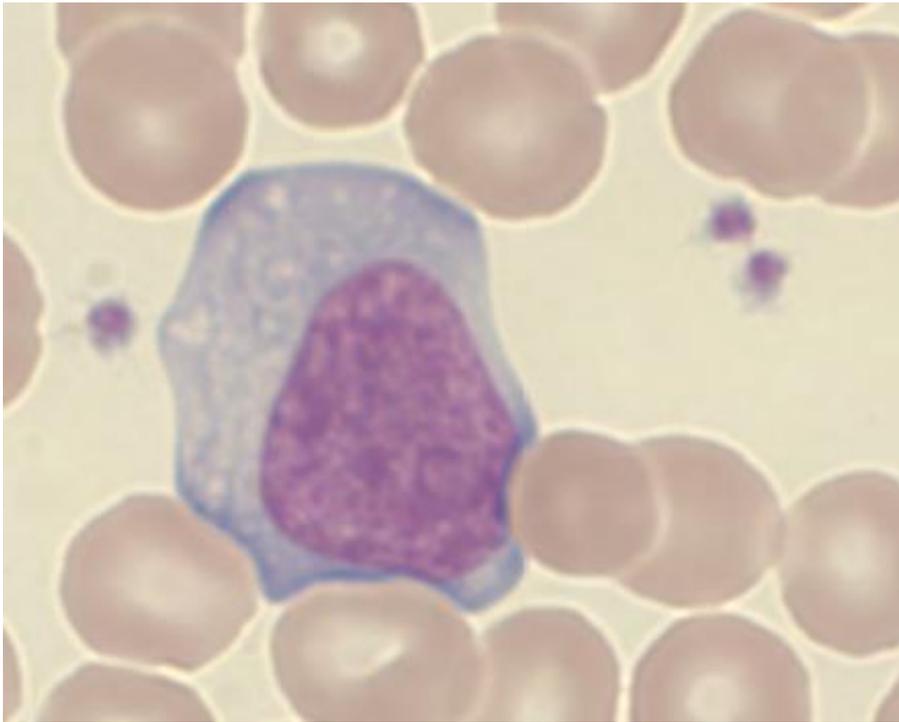
Partie pratique

Quiz



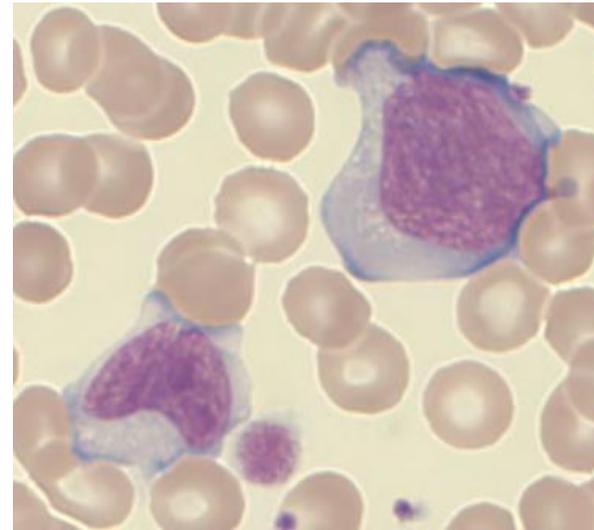
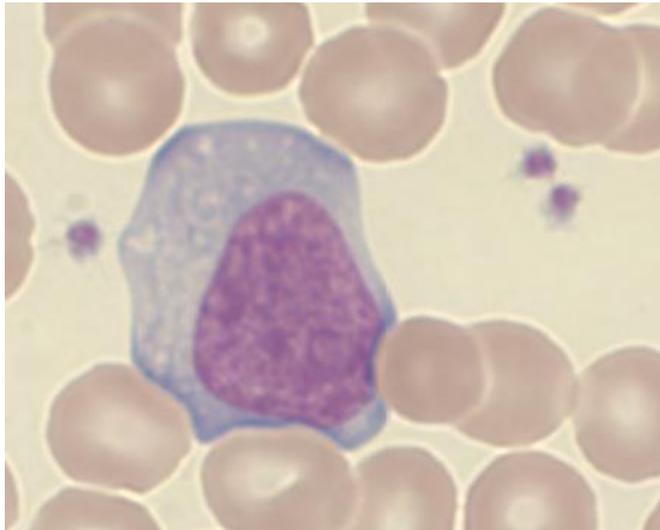


N° 1



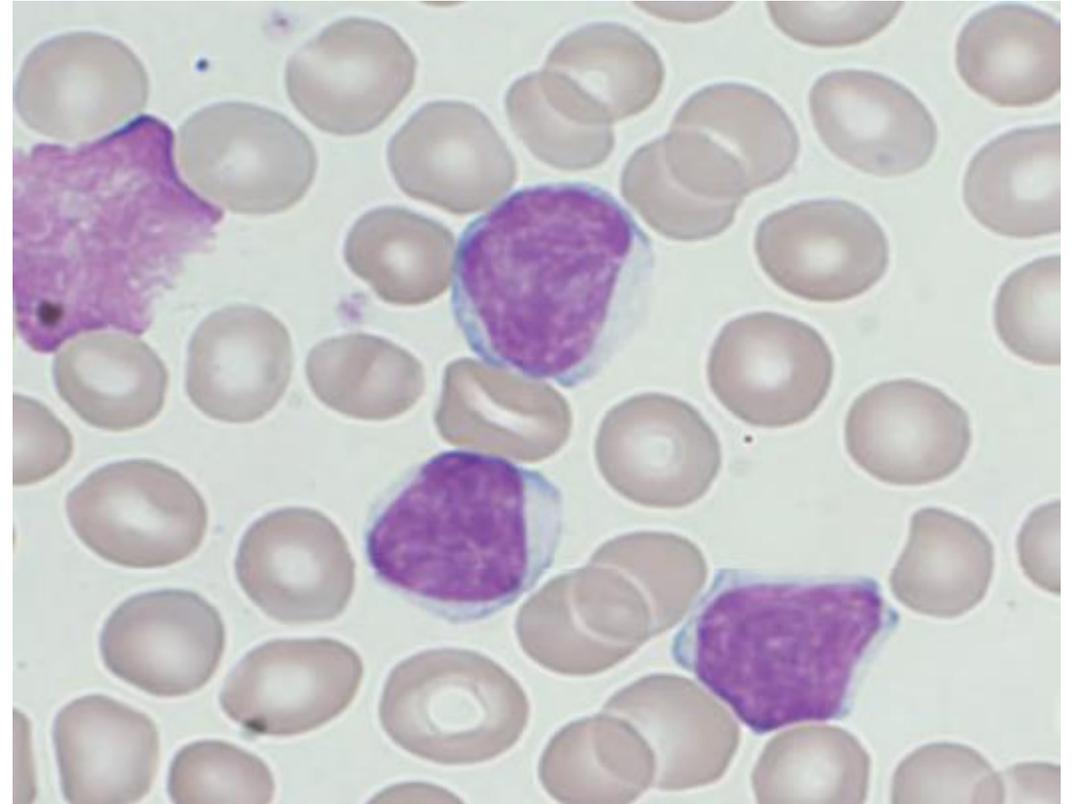
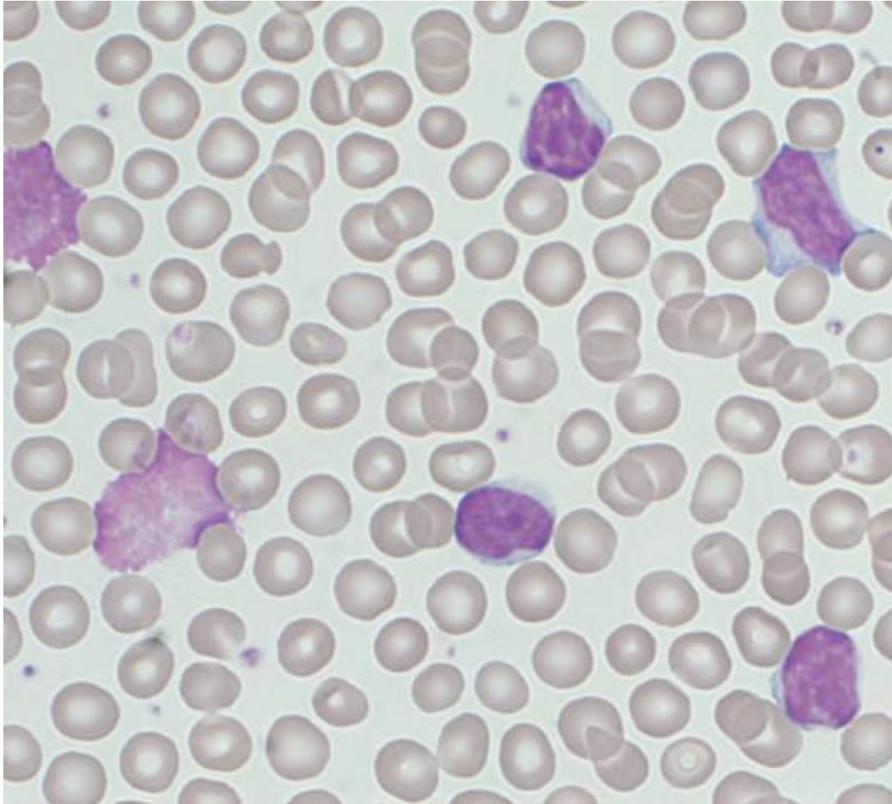


No 1 Lymphocytes atypiques probablement réactifs (infection à EBV)



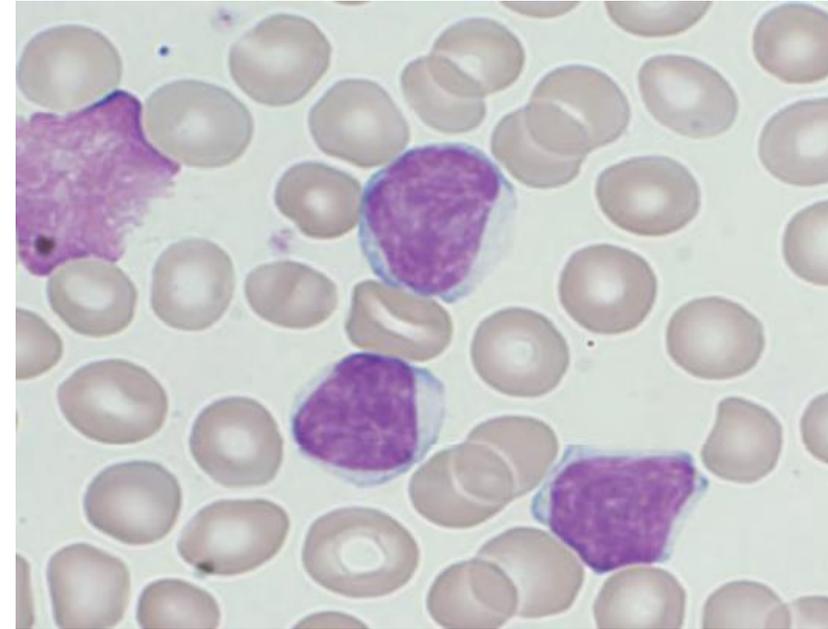
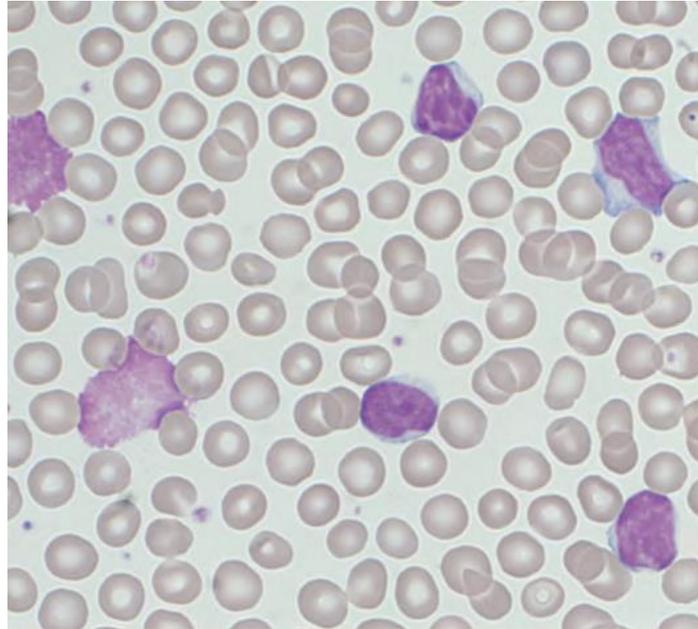


N° 2



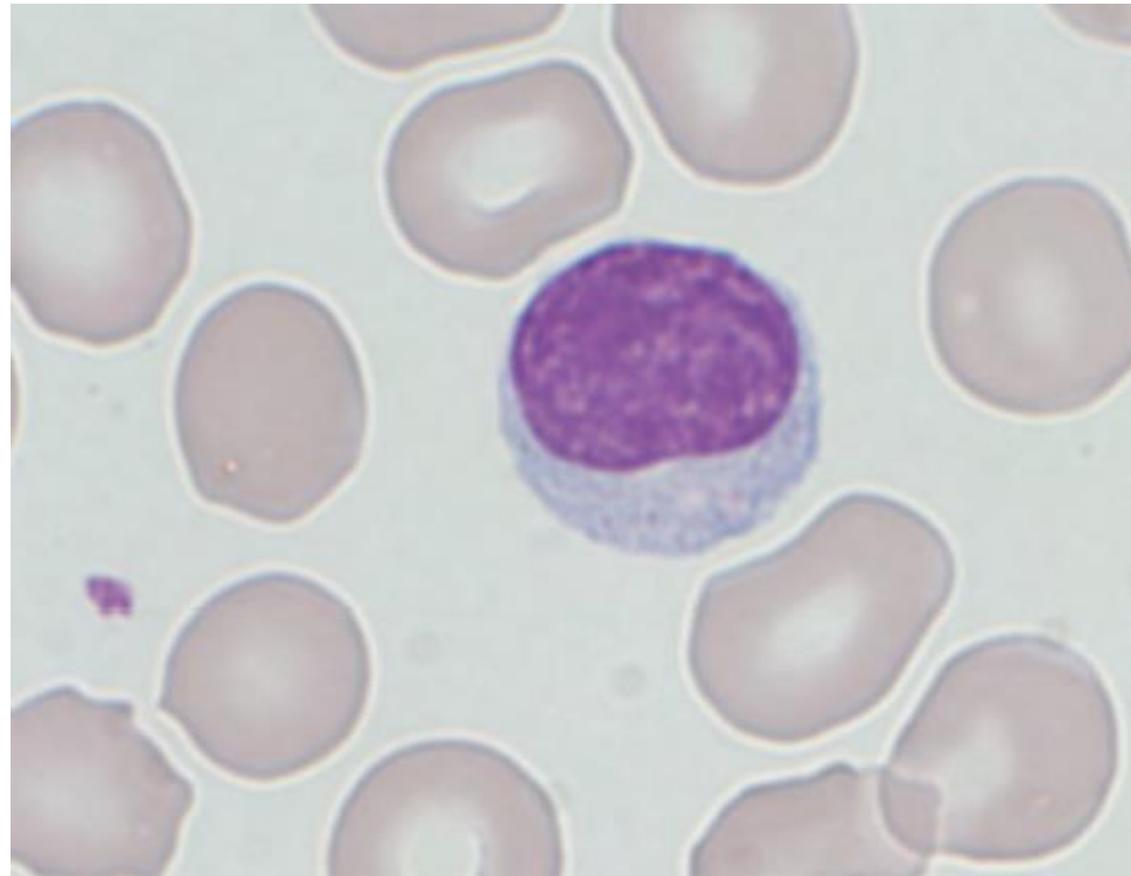


No 2 Lymphocytes "standard" (CLL)



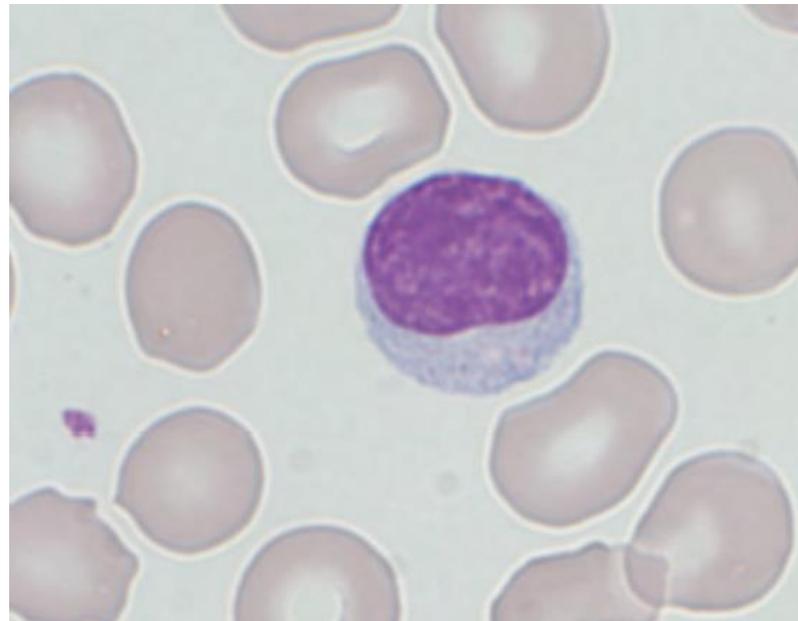


N° 3



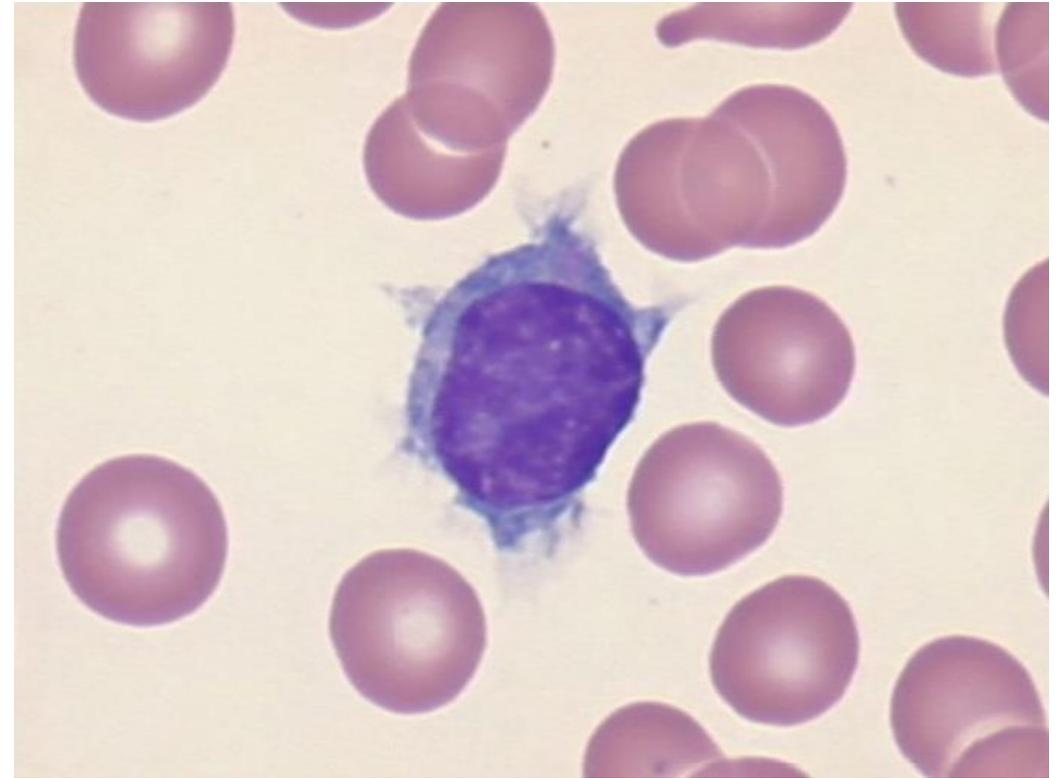
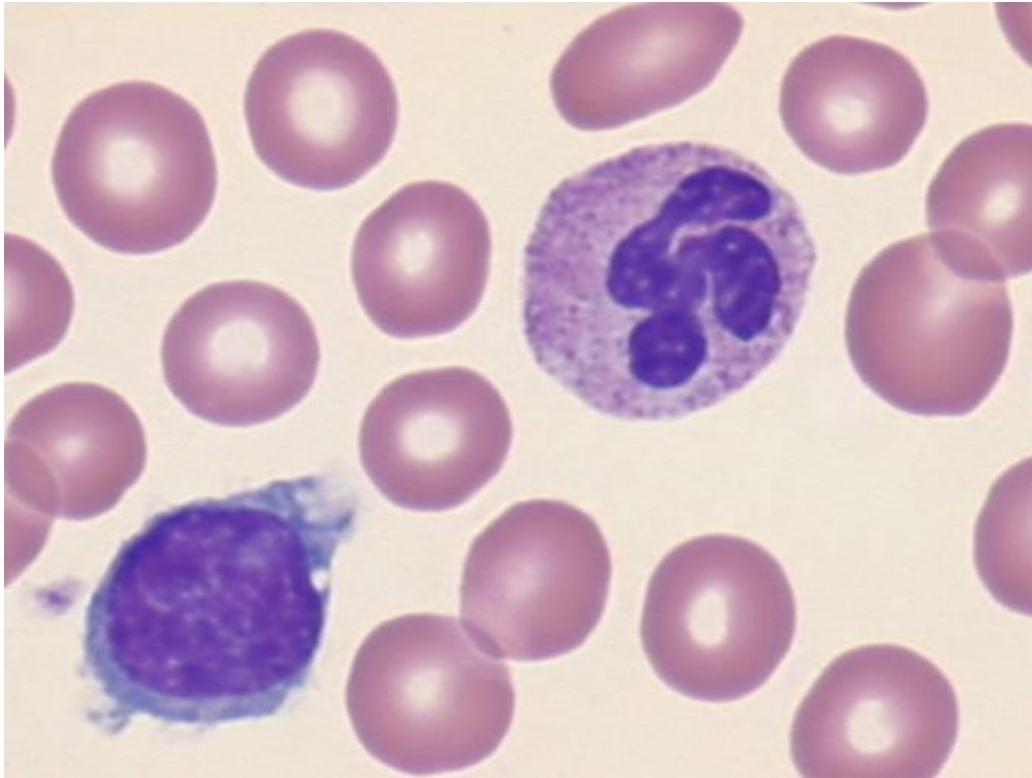


N° 3 Lymphocytes standard (formule sanguine normale)



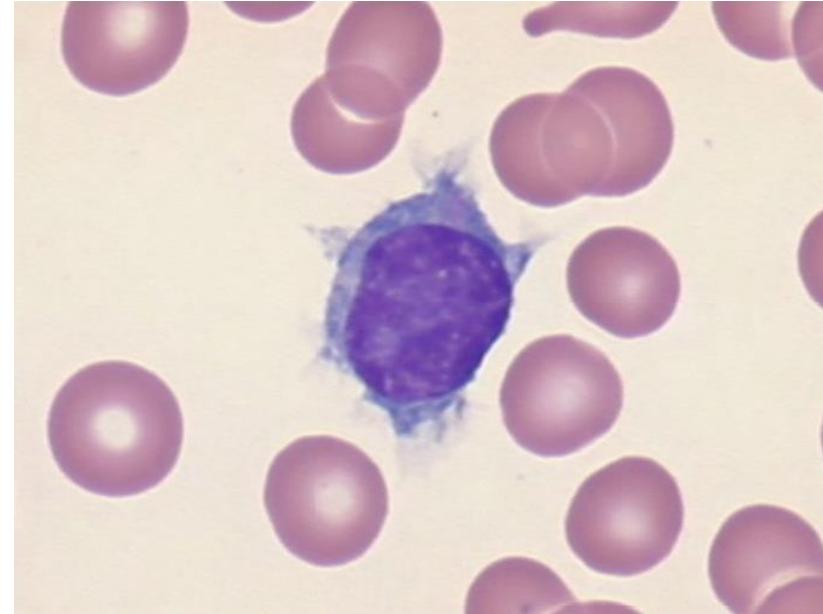
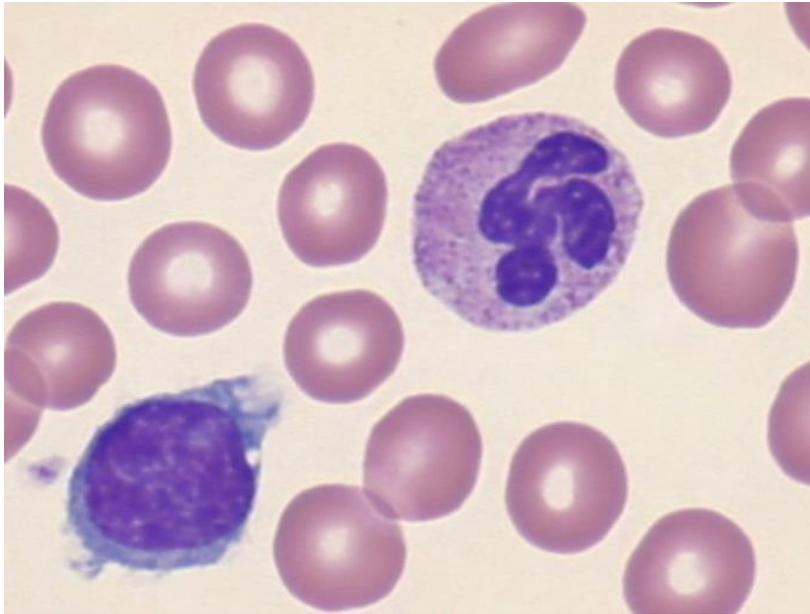


N° 4



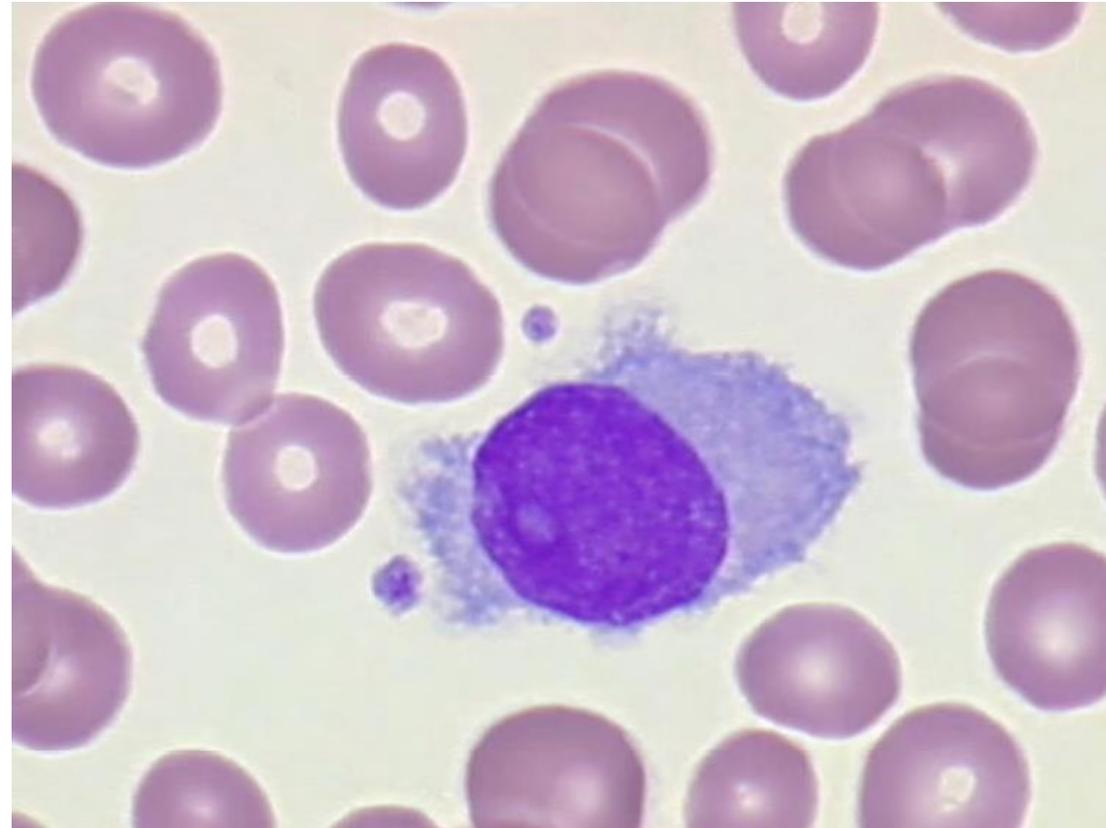


No 4 Lymphocytes atypiques probablement néoplasiques (lymph. à cellules marginales)



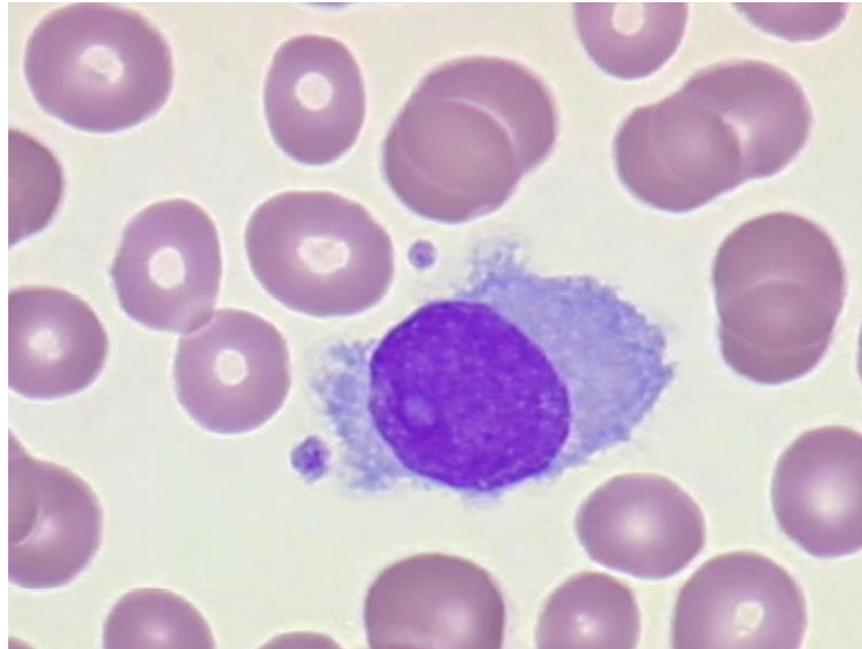


No 5



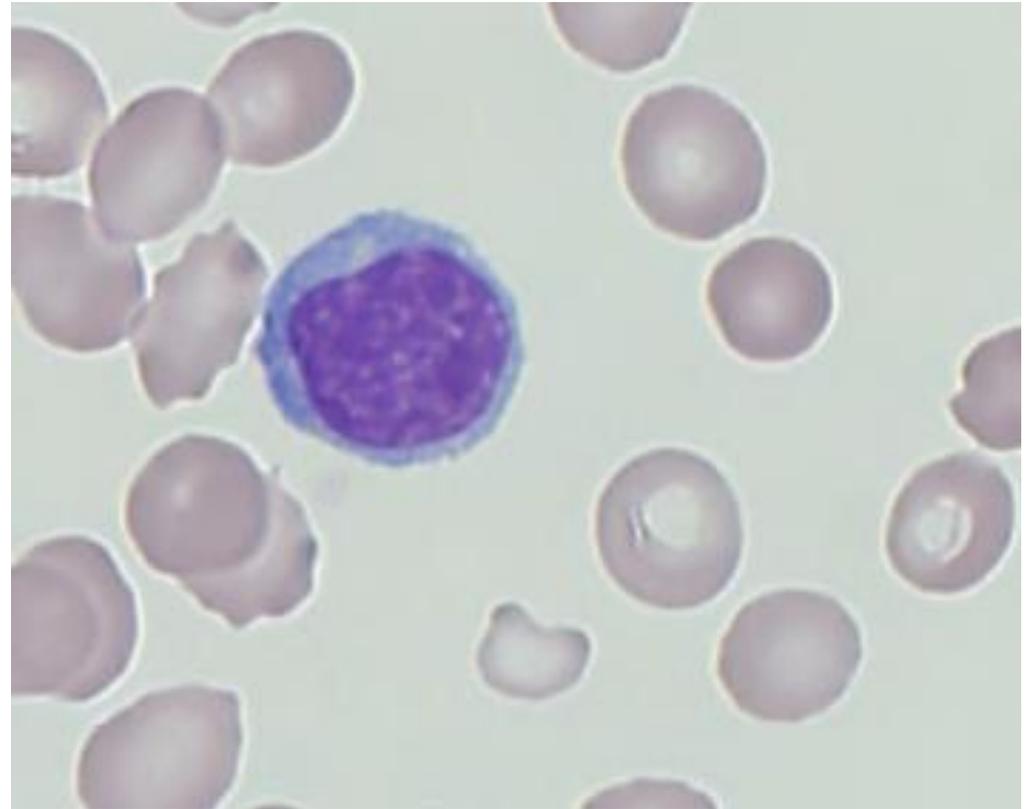
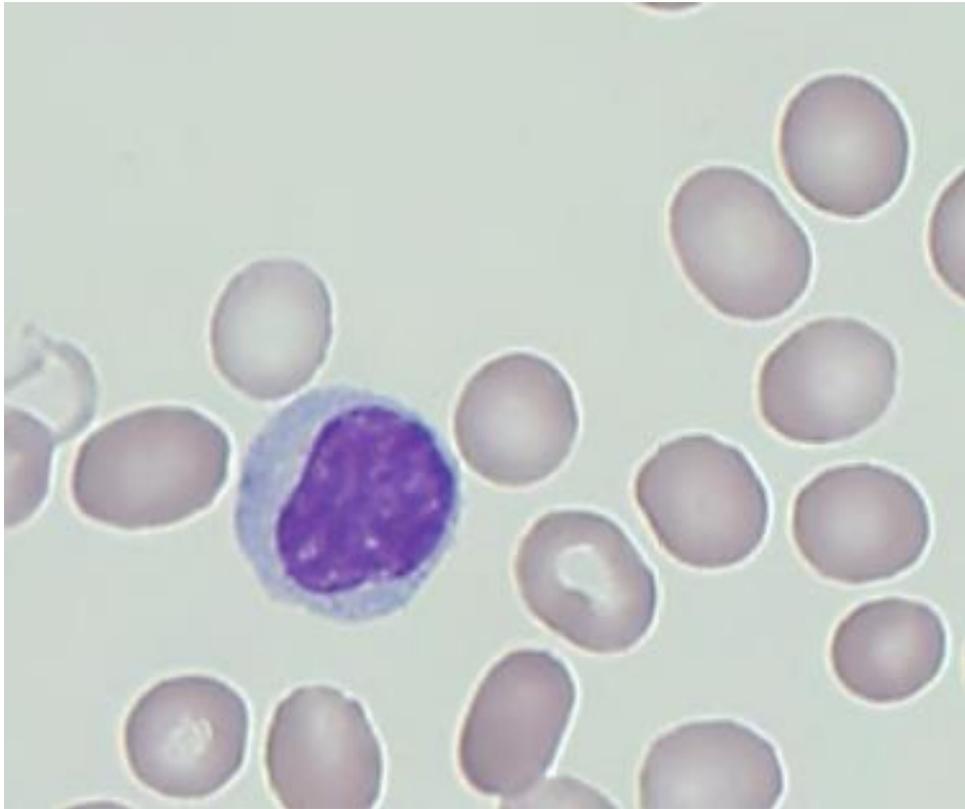


No 5 Lymphocytes atypiques probablement néoplasiques (leucémie à cellules ciliées)



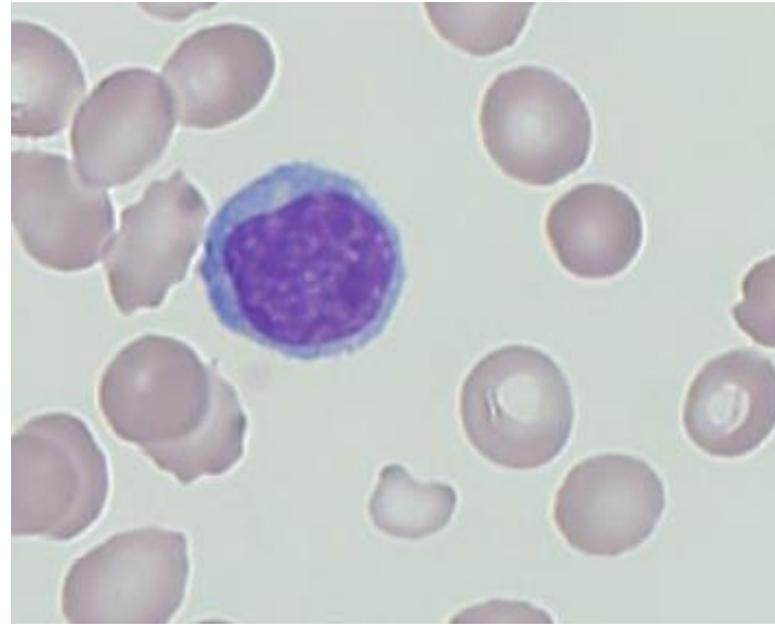
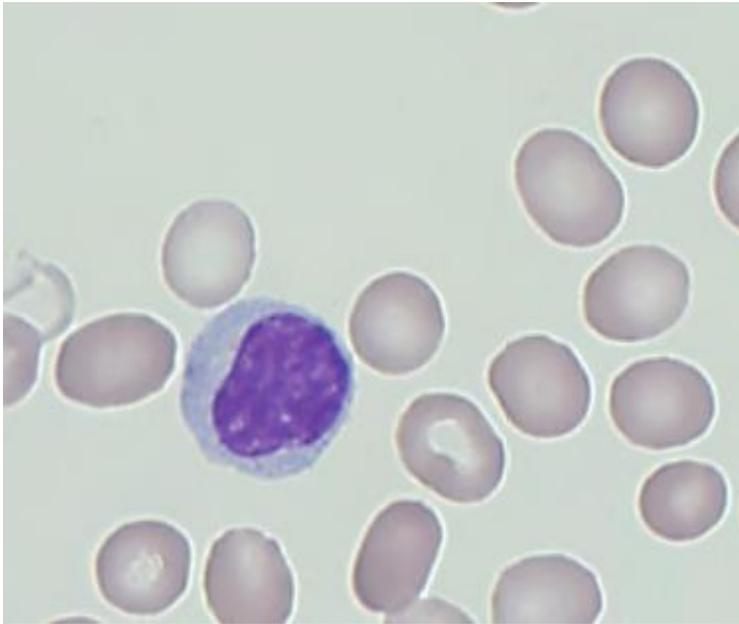


N° 6





No 6 Lymphocytes standard (formes légèrement réactives)



Votre laboratoire –
aujourd'hui et demain

RISCH.CH