

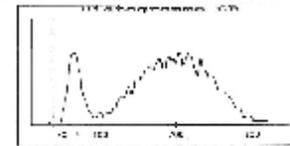
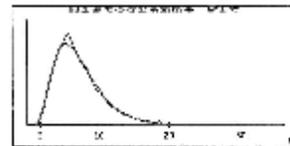
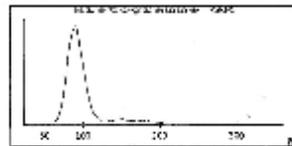
« Les anomalies de la formule sanguine »

Joffre C. Allard, M.D.
Hématologue et oncologue médical

MO #	0.000	ratio	1000	g/L
EO #	0.017	ratio	355	g/L
HA #	0.010	ratio	12.5	g
% XRB	0.000	ratio		
Ma #	14.6	H	10 ³ /L	
Ty #	2.7	H	10 ³ /L	
Mo #	1.0	H	10 ³ /L	
Co #	0.3	H	10 ³ /L	
Ba #	0.2	H	10 ³ /L	

Messages de suspicion /définitifs :

Gran. Imm.1



Fin de rapport complet / 07K02407

Méthodes manuelles

- Jusqu'en 1950
 - Décomptes cellulaires (GR, GB, plaquettes)
 - Concentration d'Hb : colorimétrie (cyanméthémoglobine)
 - Ht (centrifugation)
 - Leucocrite ou plaquettocrite
 - Différentielle

Manual hematocrit



This photo shows two anticoagulated blood-filled Wintrobe hematocrit tubes following high speed centrifugation. The tube on the left is from a normal subject, with a hematocrit of 38 percent (blue arrow). The tube on the right is from a 19-year-old female with essential thrombocytosis and a platelet count of 5,000,000/ μL . The extreme degree of thrombocytosis can be appreciated by the presence of a marked increase in the size of the "buffy coat" (white arrow). When the Wintrobe tube is filled to near capacity (upper arrows), the platelet count can be estimated by the thickness of this layer, with each mm being equivalent to one million platelets/ μL . In normal subjects, the buffy coat, which is comprised of white blood cells and platelets, is only minimally visible.

Courtesy of Stephen A Landaw, MD, PhD.

Méthodes manuelles

- En 1932 :
- Calculs à partir du nombre de GR, de la concentration en Hb et Ht
 - VGM : $10 \times \text{HCT} (\%) / \text{GR}$
 - Hb globulaire moyenne : $\text{Hb (g/dl)} \times 10 / \text{GR}$
 - Concentration globulaire moyenne Hb : $\text{Hb} \times 100 / \text{Ht}$

Méthodes automatisées

- 1956 Coulter : compteur de cellules
- 1960 appareils à multiples canaux par impédance électrique : le sang est dilué dans une solution conductrice (saline isotonique), quand les cellules passent dans une ouverture, la résistance entre les électrodes augmentent
 - Compte les cellules
 - Mesure le volume
 - Permet de calculer Ht :
 - $Ht (\%) = GR \times VGM / 10$

Méthodes automatisées

- 1970 Light scattering :
 - Les cellules passent dans un cytomètre de flux et sont illuminées par un laser ou une lumière au tungstène. La lumière « scatterered » par chaque cellule est captée par un photodétecteur et converti en influx électrique. Permet de mesurer les GR et les plaquettes. Les GB peuvent être comptés après lyse des GR

Méthodes automatisées

- Permet de mesurer le VGM et le RDW (comme avec les méthodes à l'impédance)
- CGMH et TGMH mesurés directement
- Permet de compter et mesurer le volume des plaquettes sans interférence avec les microcytes, les fragments GR et les fragments cytoplasmiques de GB, puisqu'ils ont des index réfractifs différents

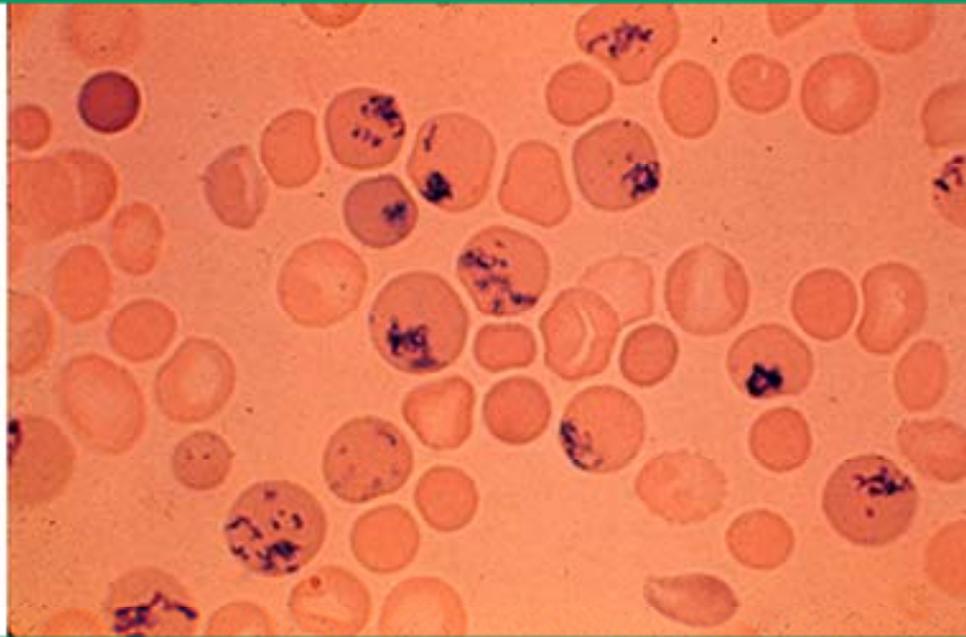
Méthodes automatisées

- Méthodes immunologiques : décompte plaquettaire avec un anticorps monoclonal anti CD61 (Cell Dyn)
- Comparaison optique vs immunocytométrie : comparables entre 25000 et 547000, mais optique surestimerait les plaquettes quand < 25000

Méthodes automatisées

- Plaquettes réticulées : ↑ contenu en RNA, jeunes plaquettes. Peuvent être mesurées avec un colorant ou par fluorescence
- Réticulocytes automatisés : 1990
 - Mesure du RNA par fluorescence

Reticulocytosis in peripheral blood



Supravital stain of a peripheral blood smear shows blue-stained residual reticulin (ribosomal RNA) in reticulocytes.
Courtesy of Stanley L Schrier, MD.



compte-rendu

All Parameters

Dernière modif. :

Par :

Par défaut

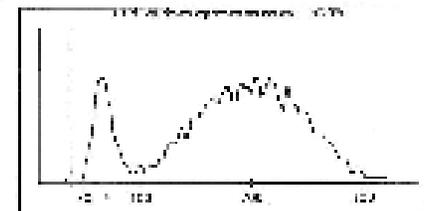
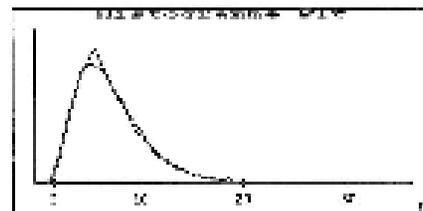
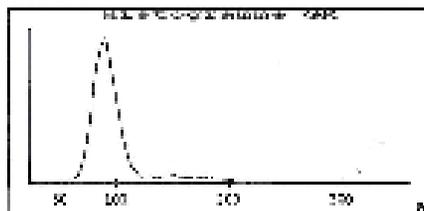
GB	18.9	H	10 ⁻³ /L
GWBC	18.9	H	10 ³ /L
Na %	0.775	H	ratio
Dy %	0.143	H	ratio
Mo %	0.050		ratio
Eo %	0.017		ratio
Ha %	0.010	H	ratio
% ZrB	0.000		ratio
Na #	14.6	H	10 ³ /L
Dy #	2.7		10 ³ /L
Mo #	1.0	H	10 ³ /L
Eo #	0.3		10 ³ /L
Ba #	0.2		10 ³ /L

GR	4.63		10 ⁻¹² /L
Hb	1.08		g/L
Ht	0.422		L/L
VHC	30.8		%
TGMH	32.2	H	g/L
CGMH	355		g/L
LDU	12.5		%
PL	300		10 ³ /L
VMP	7.6		SI

RAT %
RAT #

Messages de suspicion /définitifs :

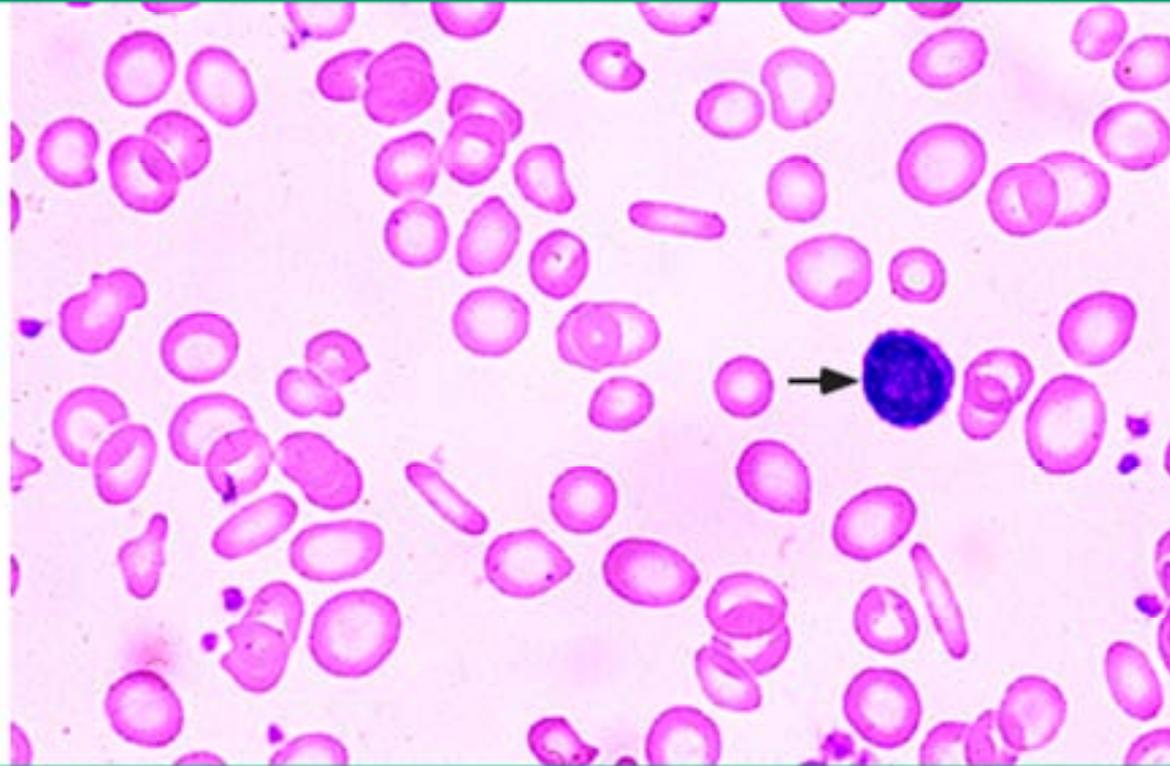
Gran. Imm.1



Histogramme des GR

- VGM : courbe normale (Gauss)
- Shift à gauche : présence d'une population de petits GR (microcytes, shistocytes) ou macrothrombocytes
- Double population : transfusion, anémies sidéroblastiques
- Shift à droite : macrocytes ou réticulocytes
- Shift à l'extrême droite (> 200) agglutinats

Microcytic hypochromic red cells



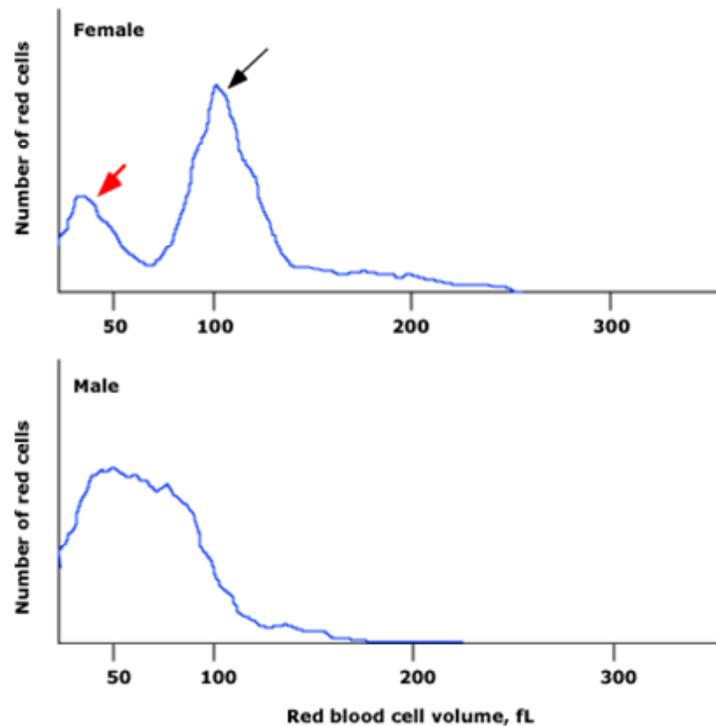
Peripheral smear from a patient with iron deficiency shows pale small red cells with just a scant rim of pink hemoglobin; occasional "pencil" shaped cells are also present. Normal red cells are similar in size to the nucleus of a small lymphocyte (arrow); thus, many microcytic cells are present in this smear. Thalassemia can produce similar findings.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

Histogramme des GR

- Dispersion : RDW indicateur du degré de variation du volume des GR (anisocytose); déviation standard de la courbe
- Peut permettre de différencier une anémie ferriprive (RDW↑) vs thalassémie (RDW normal) si VGM est ↓, mais beaucoup de thalassémies ont un RDW ↑

Red cell size distribution curves in hereditary sideroblastic anemia



Top panel: Size distribution curve from a 60-year-old woman with X-linked sideroblastic anemia (Hb, 9.9 g/dL; MCV, 93 fL; RDW, 14). It indicates the presence of two populations of red cells: one is comprised of normocytic to macrocytic red cells (black arrow) derived from precursors expressing the normal ALAS2, while a lesser population contains only microcytic red cells (red arrow) derived from precursors expressing the mutant ALAS2. Bottom panel: Size distribution curve from a 28-year-old man with hereditary sideroblastic anemia (Hb, 6.7 g/dL; MCV, 65 fL; RDW, 35). The pattern indicates a broad population of red cells, varying markedly in size, with the majority of the cells being microcytic.

Plaquettes

- 1970 : compter et mesurer les plaquettes
- Microscopie manuelle
- Impédance
- Optical scatter
- Techniques immunologiques

Plaquettes

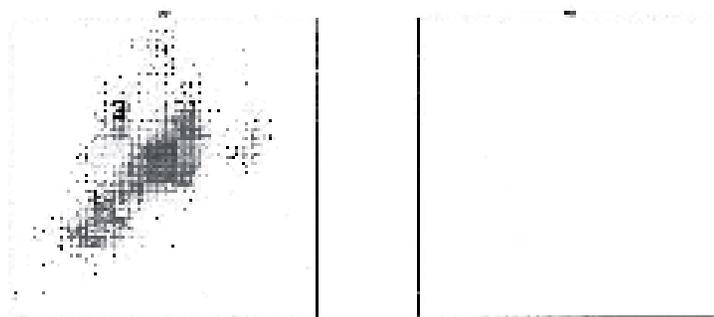
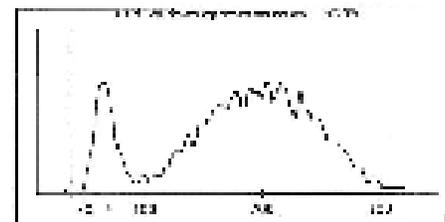
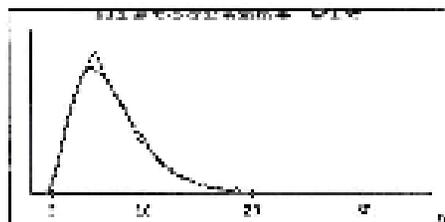
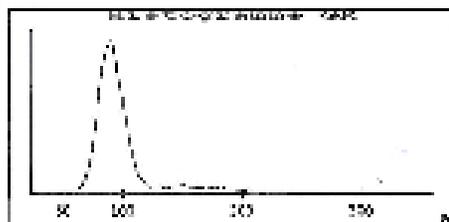
- Particules de 2 à 20 fl
- Contrairement aux GR, la distribution n'est pas gaussienne mais log normale
- VPM : calculé par une transformation logarithmique de la courbe de distribution du volume plaquettaire
- Si la courbe n'est pas log normale, suspecter : microcytes, fragments cytoplasmiques, débris
- Permet de prendre en compte les plaquettes géantes (> 20 fl)

Co # 0.3 10³/L
Ba # 0.2 10³/L

VMP 7.6 CI

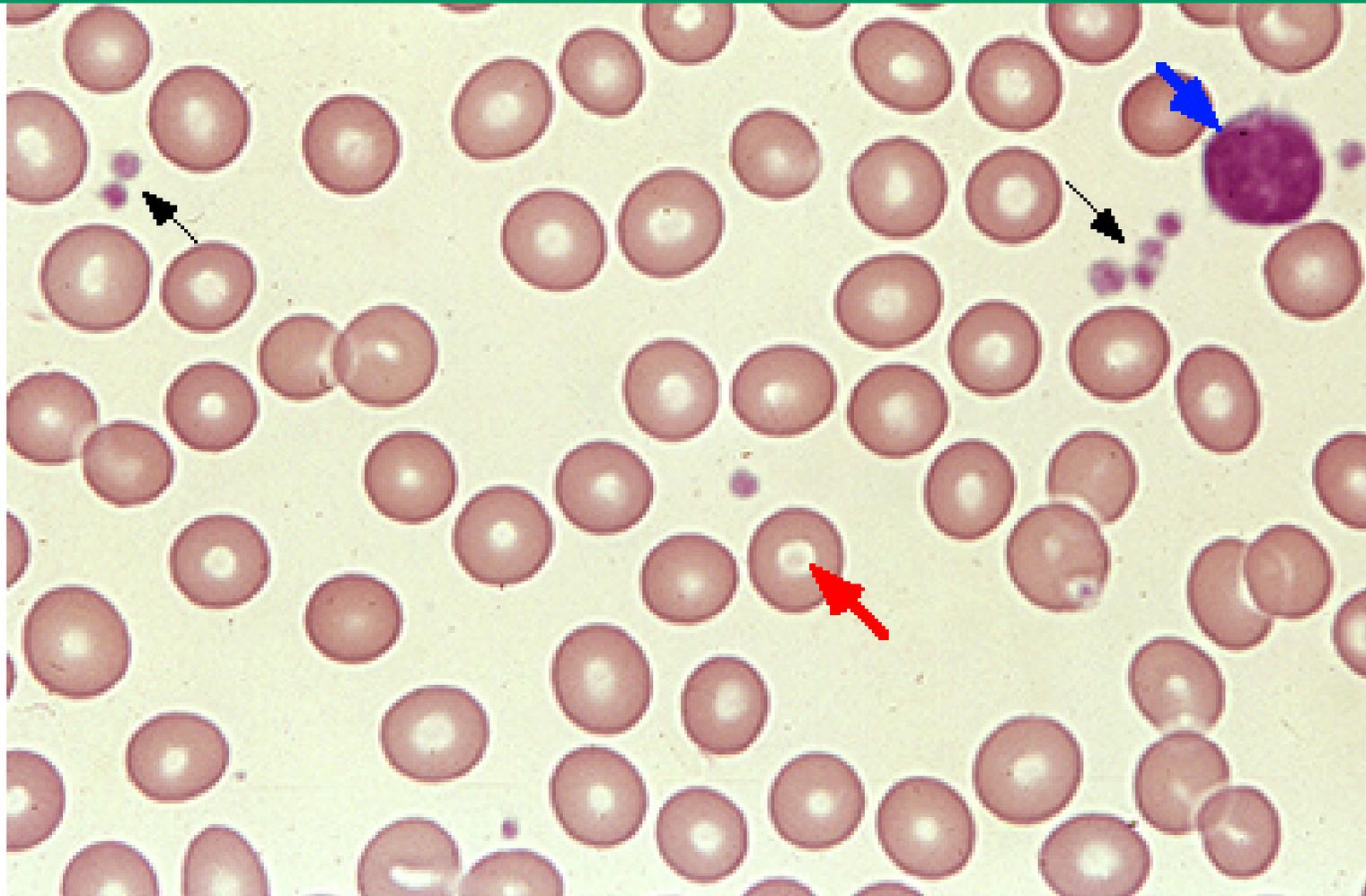
Messages de suspicion /définitifs :

Gran. Imm.1



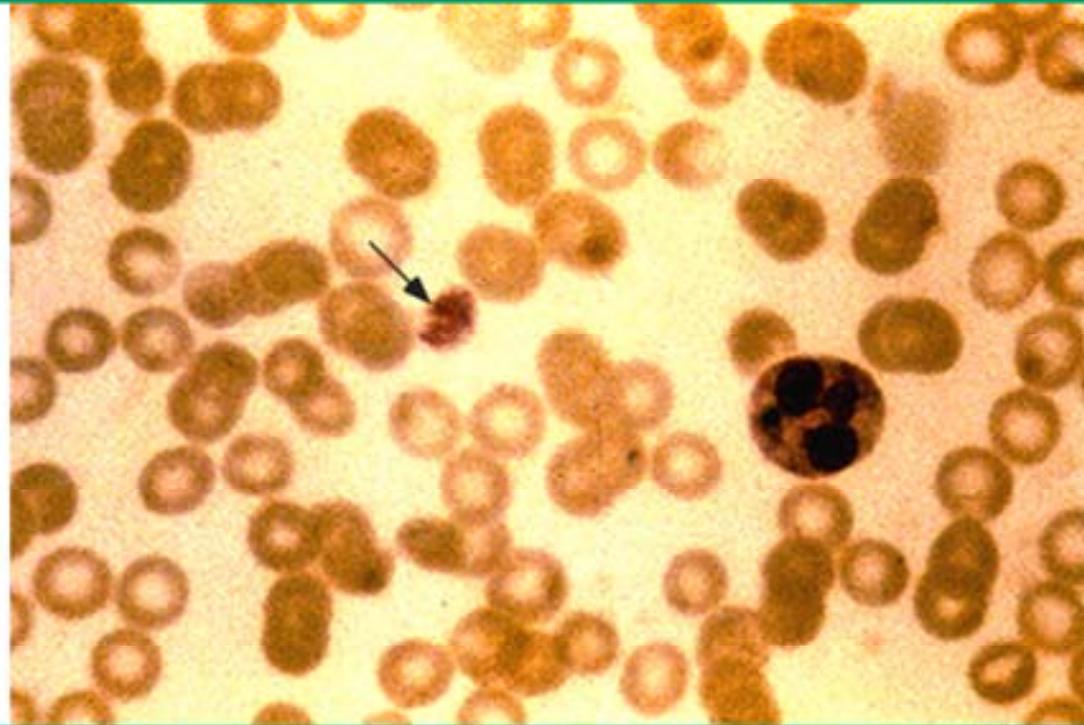
Fir du rapport complet / 3762437

Normal peripheral blood smear



High power view of a normal peripheral blood smear. Several platelets (black arrows) and a normal lymphocyte (blue arrow) can also be seen. The red cells are of relatively

Giant platelets

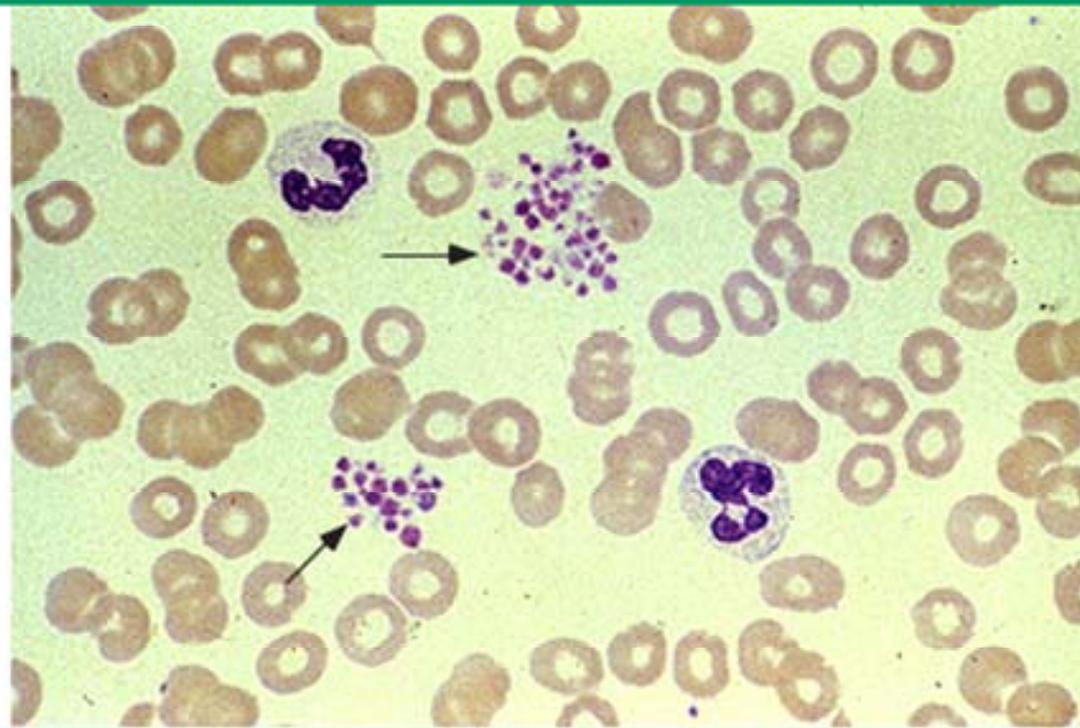


Peripheral blood smear shows a giant platelet (arrow) in a young man with congenital thrombocytopenia. The patient had persistent severe thrombocytopenia, interstitial nephritis, and high-frequency sensorineural hearing loss, a constellation of findings consistent with a variant of Alport syndrome. Before renal failure and hearing loss became apparent, the patient was diagnosed as having idiopathic thrombocytopenic purpura and treated with prednisone followed by splenectomy with no response.

Plaquettes

- Si appareil ajoute une alarme : estimation du décompte plaquettaire sur le frottis et/ou décompte manuel

Platelet clumping in EDTA



This peripheral blood smear shows platelet clumping (arrows) in an EDTA-anticoagulated blood sample. This patient had an EDTA-dependent platelet agglutinin which caused in vitro platelet clumping, resulting in an artifactually low platelet count (ie, "pseudothrombocytopenia"). No platelet clumping was seen, and the platelet count was normal, in a blood sample from this patient anticoagulated with sodium citrate.

Reproduced with permission from Beutler, E, Lichtman, MA, Coller, BS, et al, Hematology, 5th ed, McGraw-Hill, New York, 1995.

Plaquettes

- VPM : calculé par la transformation géométrique de la courbe de distribution
- Normalement, il y a une relation inverse entre le volume plaquettaire et le nombre de plaquettes :
 - Régulation de la masse plaquettaire totale (plaquettocrite)
 - Si ↓ nombre plaquettes, stimulation des mégacaryocytes par la thrombopoïétine, qui vont produire des plaquettes plus grandes

Plaquettes

- VPM ↑ associés aux thrombopénies de destruction alors que les VPM ↓ associés aux thrombopénies centrales comme aplasies ou hypoplasies médullaires
- Séquestration spléniques sont toutefois associées à un VPM ↓ car ce sont les plaquettes les plus grandes qui sont séquestrées

Plaquettes

- Le VPM a été associé au risque cardiaque, mais n'est pas souvent utilisé car difficultés techniques qui interfèrent avec la mesure :
 - Technologies différentes peuvent donner des valeurs différentes (pas de standardisation)
 - VPM varie avec le décompte plaquettaire, on aurait donc besoin d'un monogramme pour interpréter
 - Varie avec le temps dans les spécimens collectés avec EDTA, puisque l'EDTA induit des changements dans la forme de la plaquette avec le temps et est imprédictible
 - Serait surtout utile pour les thrombopénies, mais souvent dans ce cas il y a des messages d'erreur à cause d'interférences avec d'autres particules

Plaquettes

- Un VPM élevé chez un patient thrombopénique indique une moelle active (eg PTI), VPM abaissé peut indiquer une myélosuppression
- Une augmentation du VPM dans le temps peut indiquer une régénération mégacaryocytaire

Globules blancs

- En plus du décompte des GB, la FSC classique comprend la différentielle faite sur un frottis pour classifier les différents types de GB
- 1980 : Caméra sur microscope et un logiciel qui examinent les GB et les classifient sur des images numériques
- Comme les méthodes manuelles : lent et on compte 100 à 200 cellules
- Les cellules suspectes doivent être examinées par un technologiste

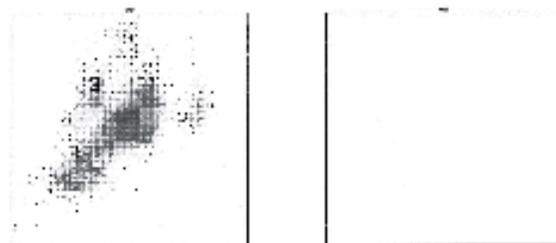
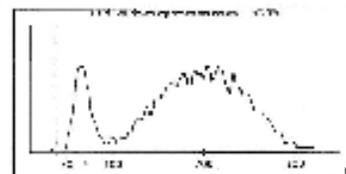
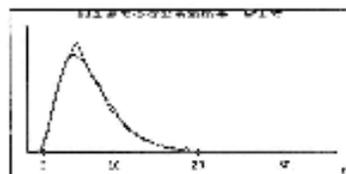
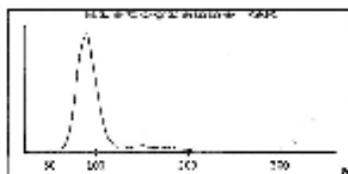
Globules blancs

- 1980 : différentielle en 3 parties par impédance ou résistance électrique :
 - Lymphocytes : plus petits GB (35 à 90 fl)
 - Granulocytes : plus grands (> 160 fl)
 - Monocytes : intermédiaires (90 à 160 fl)
- Monocytes comprennent quelques éosino et band et cellules anormales (blastés, GR nucléés, lymphocytes atypiques)
- Granulocytes pas tjrs fiables si band ou éosinos ↑
- Permettait donc de screener une population de normaux

CB	18.9	H	10 ⁰⁹ /L	GR	4.63		10 ¹² /L	RAT %	
OWBC	18.9	H	10 ⁰⁹ /L	Hb	1.55		g/L	RAT †	
Na %	0.775	H	ratio	Ht	0.422		L/L		
Dy %	0.143	H	ratio	VMC	80.8		%		
MO %	0.050		ratio	TCMH	32.2	H	g/L		
Eo %	0.017		ratio	CCMH	355		g/L		
Ha %	0.010	H	ratio	LDU	12.5		%		
% LrB	0.000		ratio						
Na #	14.6	H	10 ⁰⁹ /L						
Ty #	2.7		10 ⁰⁹ /L						
Ko #	1.0	H	10 ⁰⁹ /L	PLT	300		10 ⁰⁹ /L		
Eo #	0.3		10 ⁰⁹ /L	WBC	7.6		CL		
Ba #	0.2		10 ⁰⁹ /L						

Messages de suspicion /définitifs :

Exam. Imm.1 :

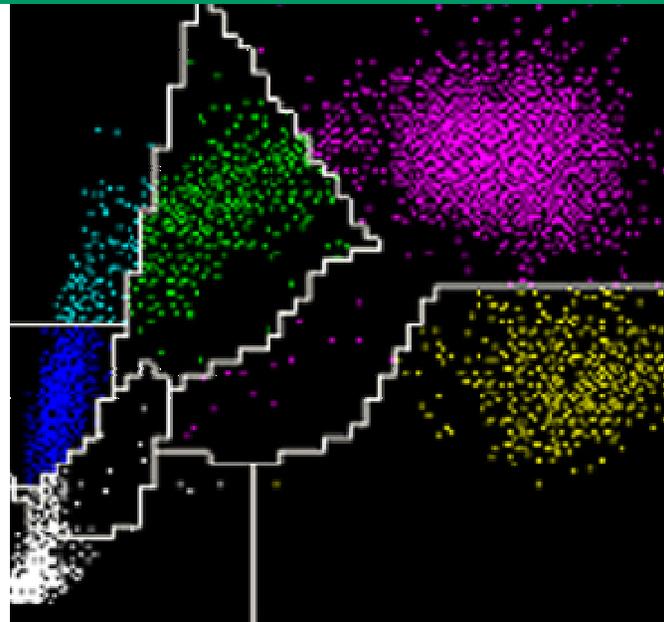


Fin du rapport complet / 57852457

Globules blancs

- Début 1990 : différentielle en 5 parties
- Permet de différencier 5 sous types :
 - Neutros, éosino, baso, lympho et mono avec flag pour blastes, lympho atypiques, GR nucléée, cellules lymphomateuses, granulos mononuclés
- Combinaisons de différentes technologies :
 - Impédance
 - Radiofréquence
 - Laser scattering
 - Coloration à la peroxydase
 - Fluorescence

WBC differential Advia 2120



A white cell differential on the Advia 2120 automated cell counter is shown here. Staining for peroxidase (perox) is displayed on the x axis versus cell size on the y axis. Neutrophils (pink) and eosinophils (yellow) containing the most perox activity are found to the right. Cells with little or no perox cluster to the left, such as lymphocytes/basophils (blue) and large unstained cells (blasts, variant and atypical lymphocytes, light blue). Monocytes (green) contain a small amount of perox and are located between the neutrophils and large unstained cells. Noise is indicated in the lower left hand corner (white). Nucleated red blood cells are present in the area between lymphocytes and noise; platelet dumps are found in the area to the right of the nucleated red blood cells.

Causes de résultats erronés

- Fausse élévation de la CGMH :
 - Peut augmenter si sphérocytes sont présents, mais une fausse augmentation de l'Hb ou une fausse diminution du nombre de GR peut entraîner une augmentation de la CGMH :
 - Des GB très ↑, lipémie, la présence de protéines monoclonales qui auraient précipité vont produire de la turbidité, et entraîner une fausse élévation du dosage de l'Hb par colorimétrie
 - La présence d'agglutinines froides diminue faussement le nombre de GR, puis les agglutinats passent en groupe plutôt qu'un par un
 - Les solutions artificielles d'Hb vont entraîner une augmentation de l'Hb sans augmentation des GR

Causes de résultats erronés

- Fausses diminutions du CGMH :
 - Peut vraiment être diminué dans les anémies ferriprives
 - Concentration élevée en glucose (hyperglycémie ou contamination par un soluté) cause un déséquilibre osmotique dans la chambre d'analyse des GR, entraînant un œdème des GR, augmentant faussement le VGM et diminuant faussement la CGMH

Causes de résultats erronés

- Les alertes d'erreur pour les plaquettes :
 - Importantes car peuvent indiquer un décompte plaquettaire erroné
 - Causes :
 - Bruit électronique
 - Fragments cytoplasmiques cellulaire
 - GR microcytaires
 - → augmentation erronée du décompte plaquettaire

Causes de résultats erronés

- Diminution erronée du décompte plaquettaire :
 - Plaquettes géantes (peuvent être omises du décompte, eg plaquettes peuvent être > GR dans l'anomalie de May Hegglin.
- Vérifier le frottis manuellement si alerte
- Décompte manuel

Causes de résultats erronés

- Erreurs de décompte des leucocytes :
 - Interférences au seuil inférieur du décompte des GB peuvent entraîner des artéfacts
 - Spécimen coagulé
 - Aggrégats plaquettaires
 - Plaquettes géantes : (↓ plaquettes, ↑ GB, ↑ % lymphocytes)
 - Présence de cellules anormales (blastes, lymphocytes atypiques, cellules jeunes, érythroblastes) : alerte et vérifier le frottis

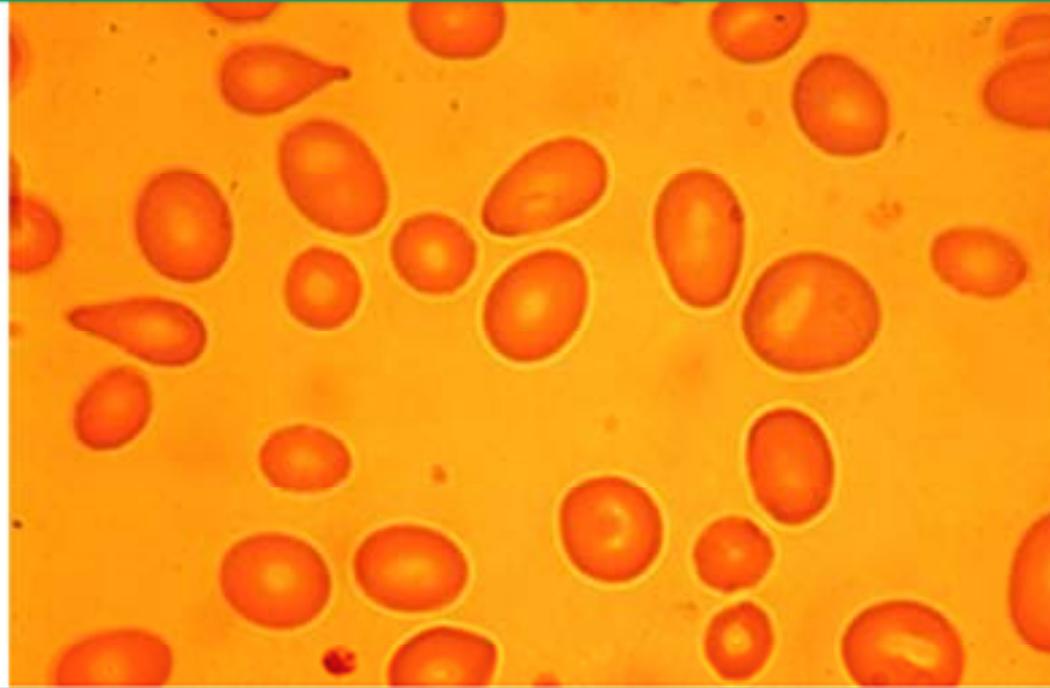
Anomalies de forme des GR

- Macrocytes, macro ovalocytes, associés à shift à droite, neutros hyper segmentés : contexte mégaloblastique
- Microcytes avec hypochromie : ferriprive
- Schistocytes, thrombopénie : anémie microangiopathique (PTT, syndrome hémolytique urémique, CIVD)

Anomalies de forme des GR

- Microcytes associés à cellules cibles; thalassémies, Hb pathie
- Aniso poikilocytose, corps de Jolly : asplénie
- Hépatopathie : macrocytes, ovalocytes, cellules cibles
- Cellules en faucille : drépanocytose
- Sphérocytes : hémolyse
- Echinocytes, cellules spiculées : insuffisance rénale chronique

Macroovalocytosis

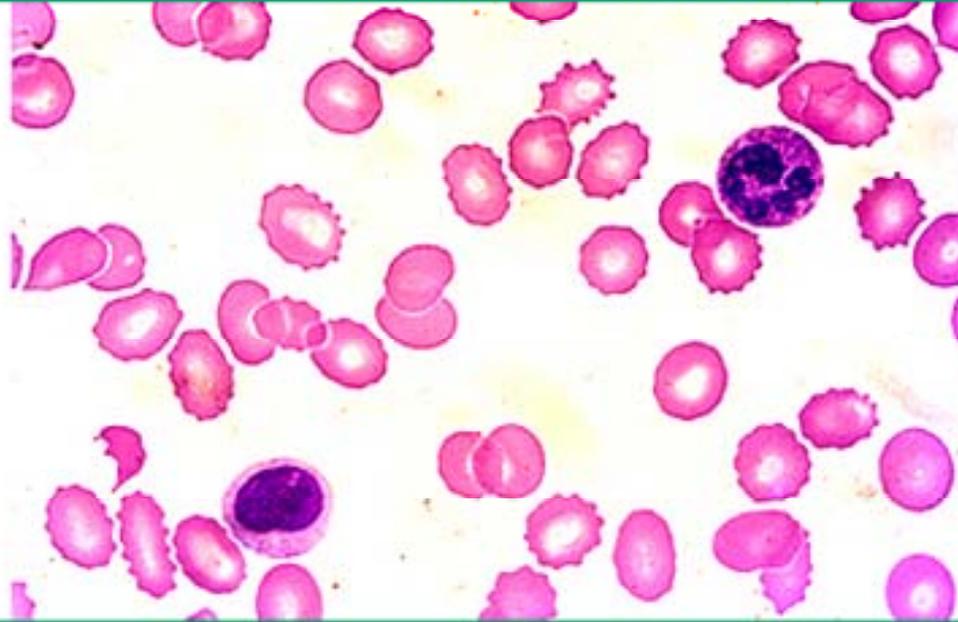


Peripheral smear shows marked macroovalocytosis in a patient with vitamin B12 deficiency.

Courtesy of Stanley L Schrier, MD.



Echinocytes

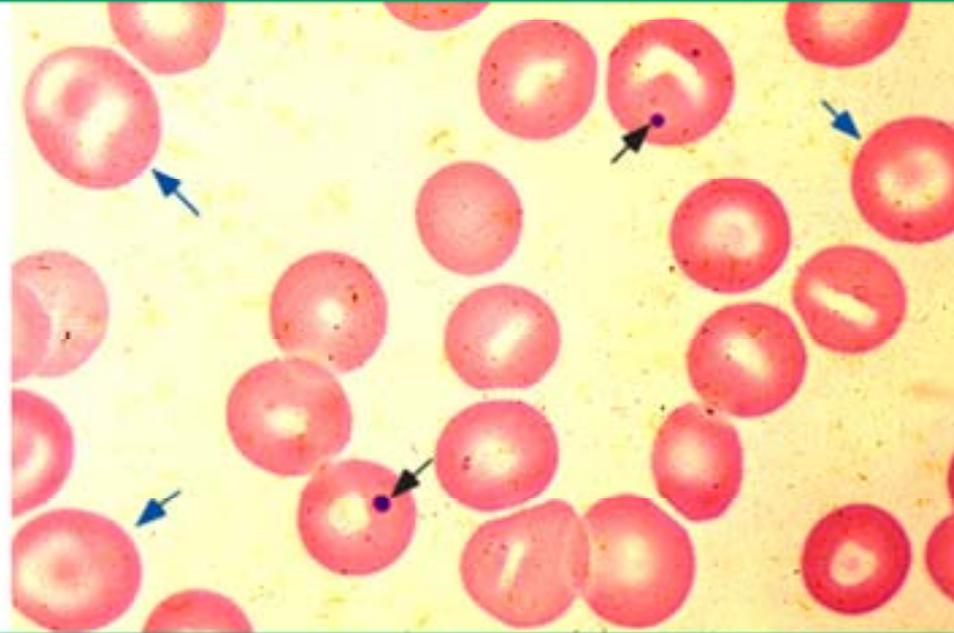


Peripheral blood smear showing numerous echinocytes, also known as burr cells. Echinocytes are often confused with acanthocytes. However, the projections of the red cell membrane in echinocytes are smaller and much more regular in shape and distribution than in acanthocytes. It may be difficult on stained slides to distinguish echinocytes from spur cells.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).



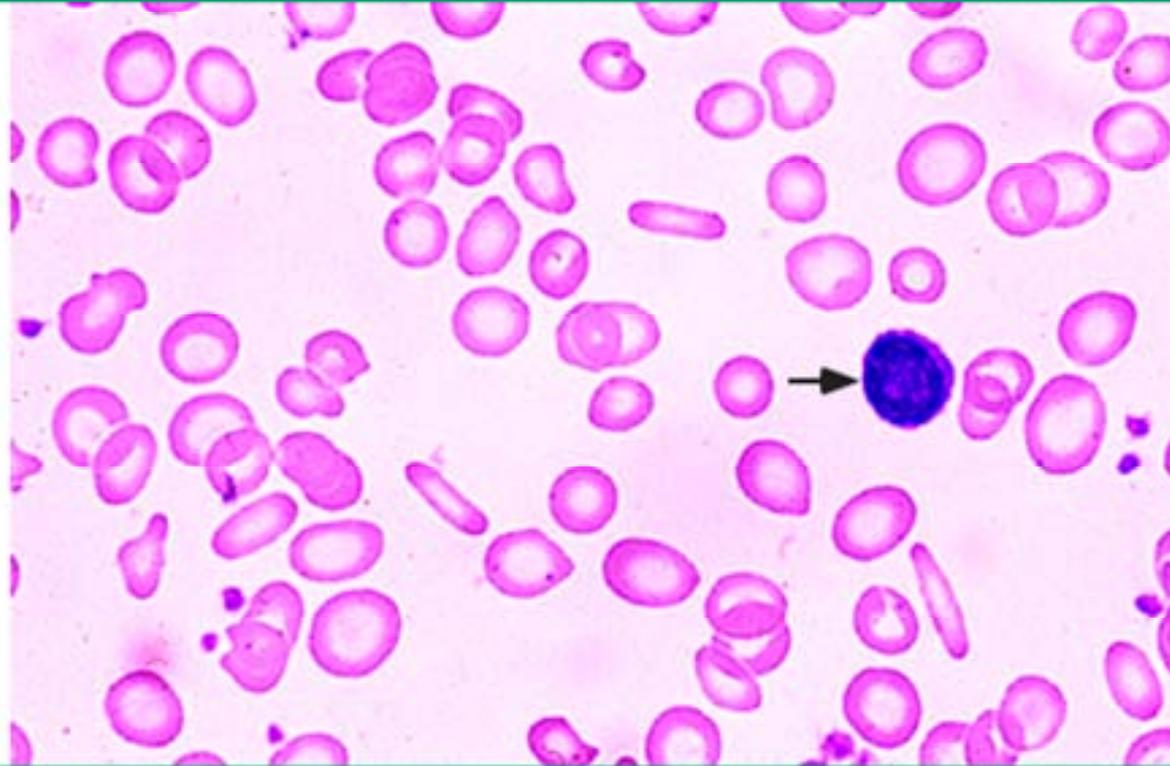
Howell-Jolly bodies



This peripheral blood smear shows Howell-Jolly bodies in two red cells (black arrows), nuclear remnants that are normally removed by the spleen. Thus, they are seen in patients who have undergone splenectomy (as in this case) or have functional asplenia (eg, sickle disease disease). Target cells are also seen (blue arrows), another consequence of splenectomy.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

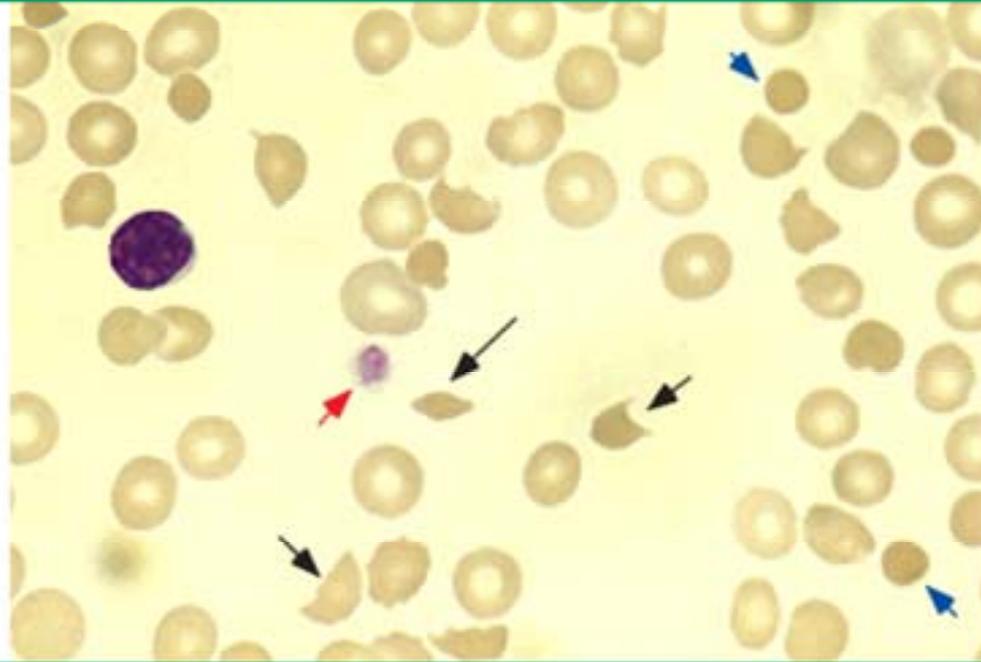
Microcytic hypochromic red cells



Peripheral smear from a patient with iron deficiency shows pale small red cells with just a scant rim of pink hemoglobin; occasional "pencil" shaped cells are also present. Normal red cells are similar in size to the nucleus of a small lymphocyte (arrow); thus, many microcytic cells are present in this smear. Thalassemia can produce similar findings.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

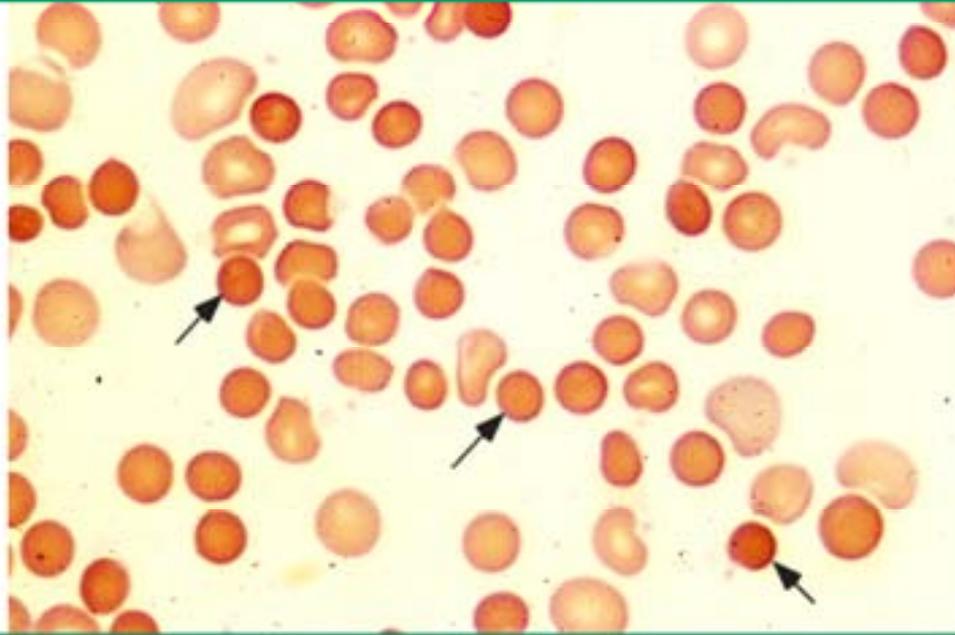
Microangiopathic smear



Peripheral blood smear from a patient with a microangiopathic hemolytic anemia with marked red cell fragmentation. The smear shows multiple helmet cells (small black arrows), other fragmented red cells (large black arrow); microspherocytes are also seen (blue arrows). The platelet number is reduced; the large platelet in the center (red arrow) suggests that the thrombocytopenia is due to enhanced destruction.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

Spherocytes

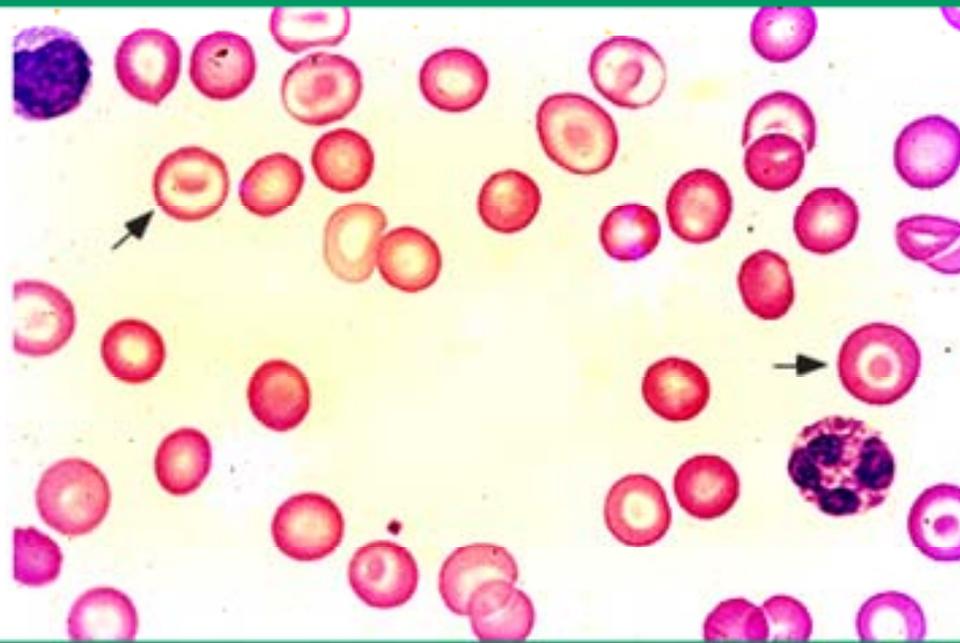


Peripheral blood smear shows multiple spherocytes which are small, dark, dense hyperchromic red cells without central pallor (arrows). These findings are compatible with hereditary spherocytosis or autoimmune hemolytic anemia.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).



Target cells



Peripheral smear shows multiple target cells which have an area of central density surrounded by a halo of pallor (arrows). These cells are characteristic of liver disease and certain hemoglobinopathies (most notably hemoglobin C disease).

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).



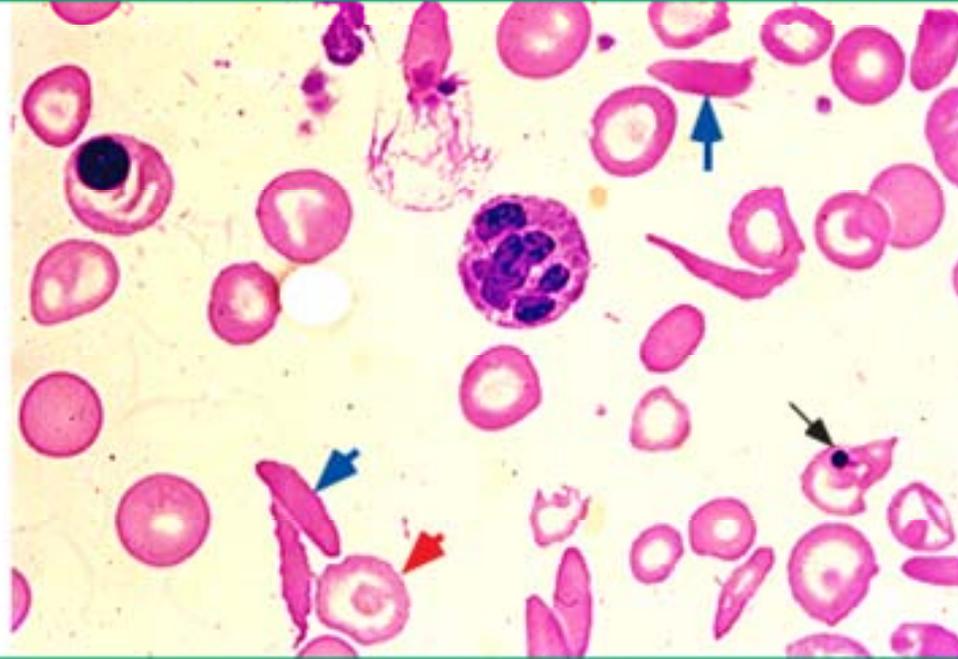
Teardrop cells



This peripheral smear from a patient with bone marrow fibrosis shows numerous teardrop-shaped red cells (arrows). Note that the teardrops are pointed in several different directions, ruling out an artifact due to preparation of the smear.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

Sickle cell anemia



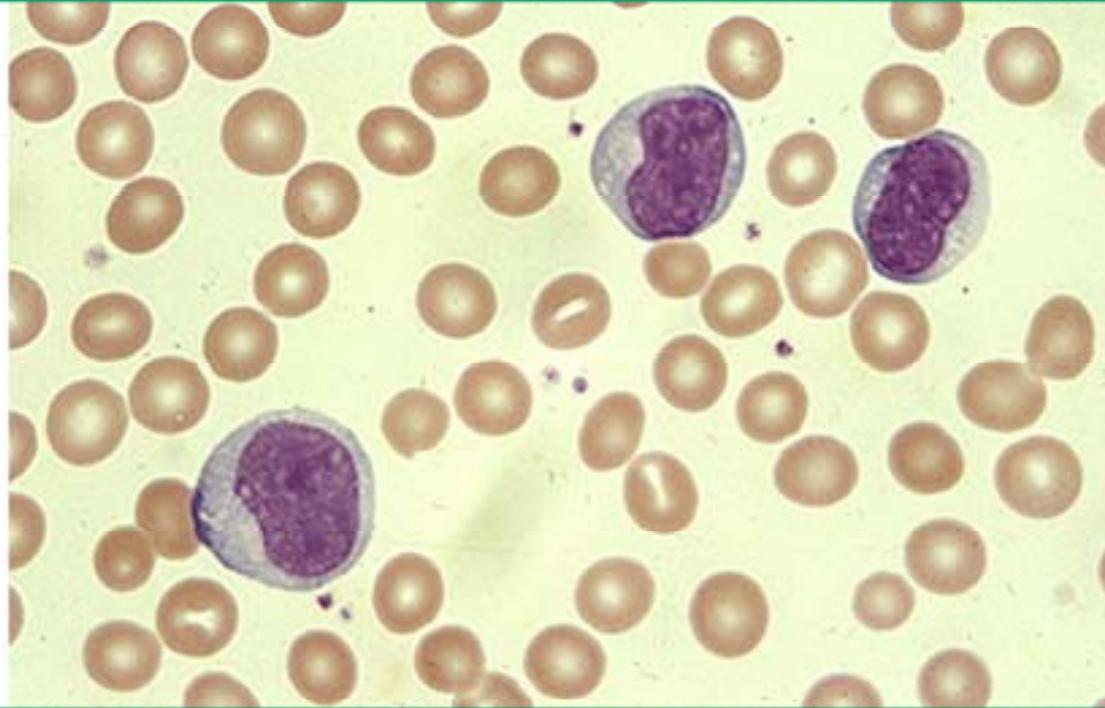
Peripheral smear from a patient with sickle cell anemia shows multiple spindly sickle cells (blue arrows), a nucleated red blood cell in the upper left, and a Howell-Jolly body (black arrow), which is a nuclear fragment normally removed by the spleen. Target cells are also present (red arrow). This patient has functional asplenia because of repeated splenic infarctions.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

Anomalies des GB

- Lymphocytes : lymphocytes atypiques, infections virales, syndromes mononucléosiques
- Grands lymphocytes granulaires (10-15 % des lymphocytes)

Atypical lymphocytes

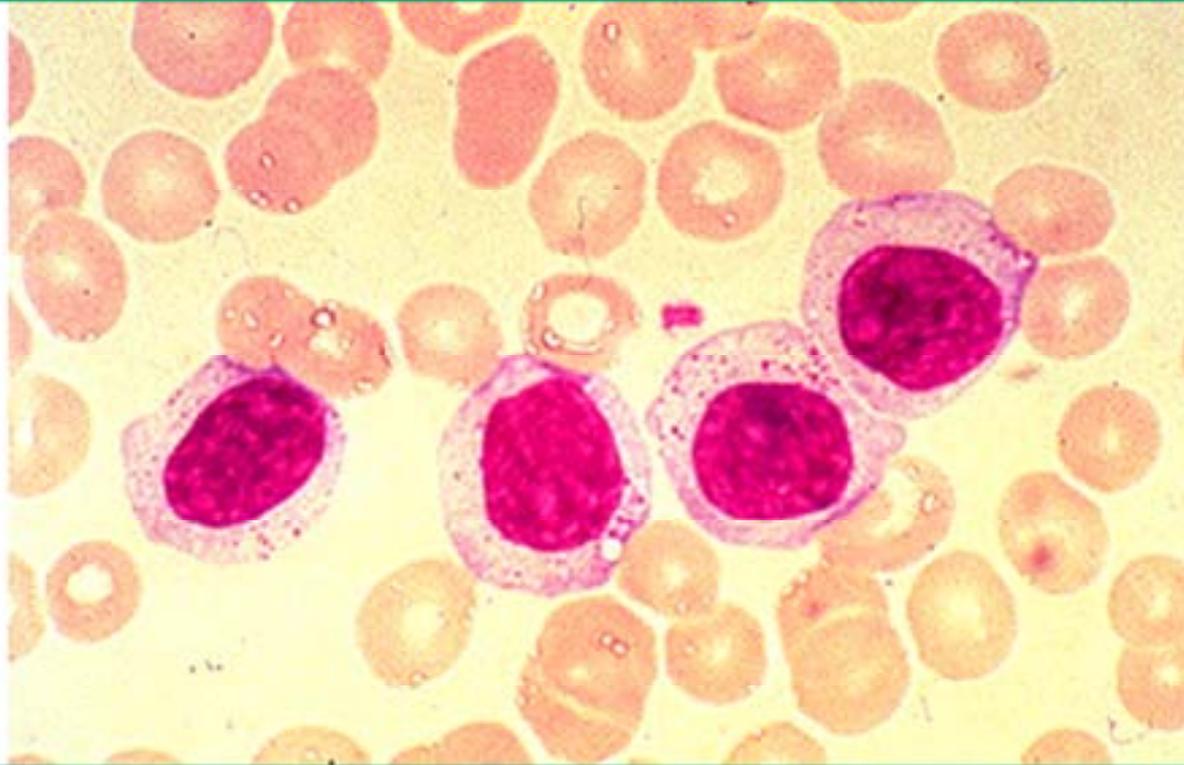


Peripheral smear from a patient with infectious mononucleosis shows three atypical lymphocytes with generous cytoplasm.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).



Large granular lymphocytes



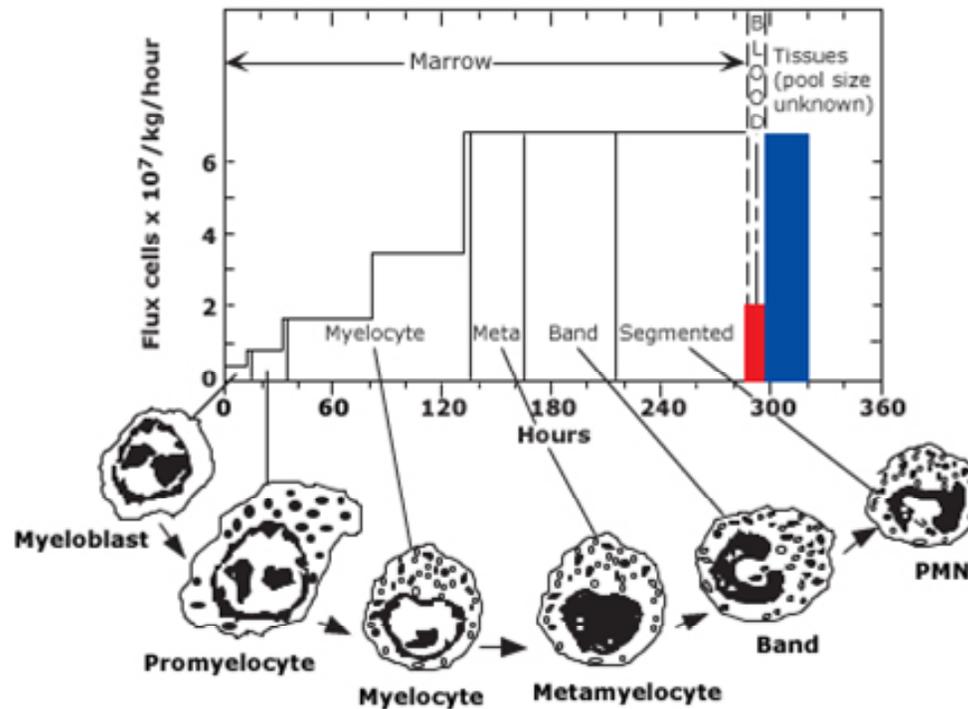
Peripheral blood smear from a patient with T-cell large granular lymphocyte (LGL) leukemia shows four large granular lymphocytes (15 to 18 microns in size, about twice the size of the red cells), abundant cytoplasm containing typical azurophilic granules, and a round to oval nucleus.

Courtesy of Thomas P Loughran, Jr, MD.

Anomalies des GB

- Neutrophiles : maturation normale

PMN development



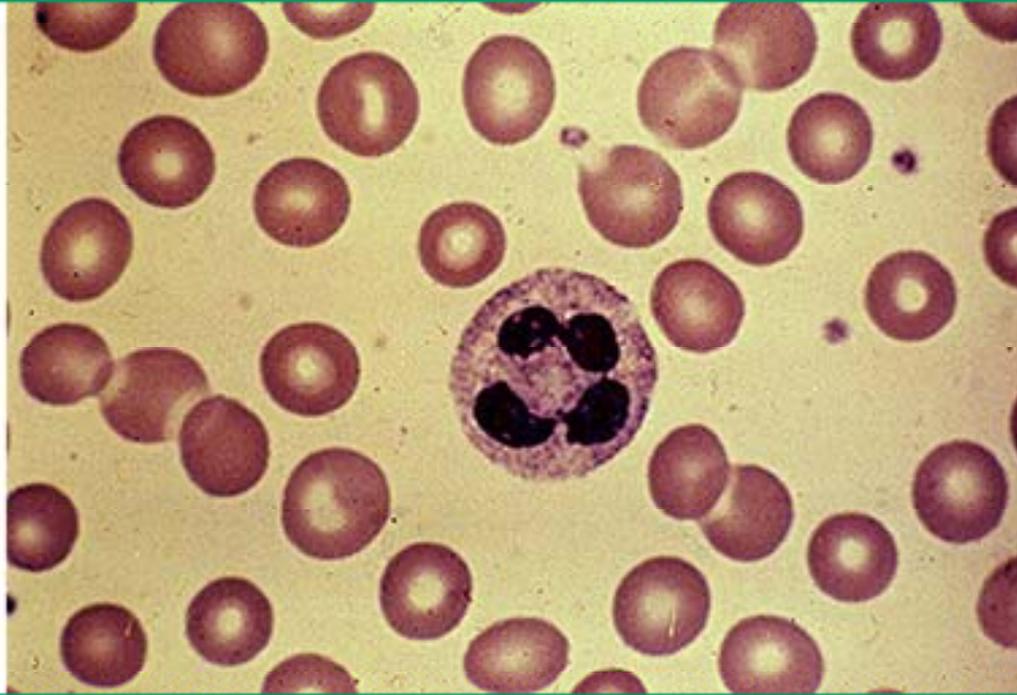
Schematic representation of polymorphonuclear neutrophil (PMN) development and kinetics expressed as the flux time myeloid precursors spend at each stage of maturation in the bone marrow. Note the larger pool size and longer period PMNs spend in the marrow compared to the smaller pool size (in red) and shorter period PMNs spend in the blood before entering the tissue pool (in blue) where they undergo apoptosis.

Adapted from Bainton, DF. Developmental biology of neutrophils and eosinophils. In: Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates, 2d ed, Raven Press, New York, 1992.

Anomalies des GB

- Lobulation :
 - Neutrophiles normaux
 - Hypersegmentés
 - Anomalie de Pelger Huet (héréditaire vs myélodysplasie)

Normal human PMN

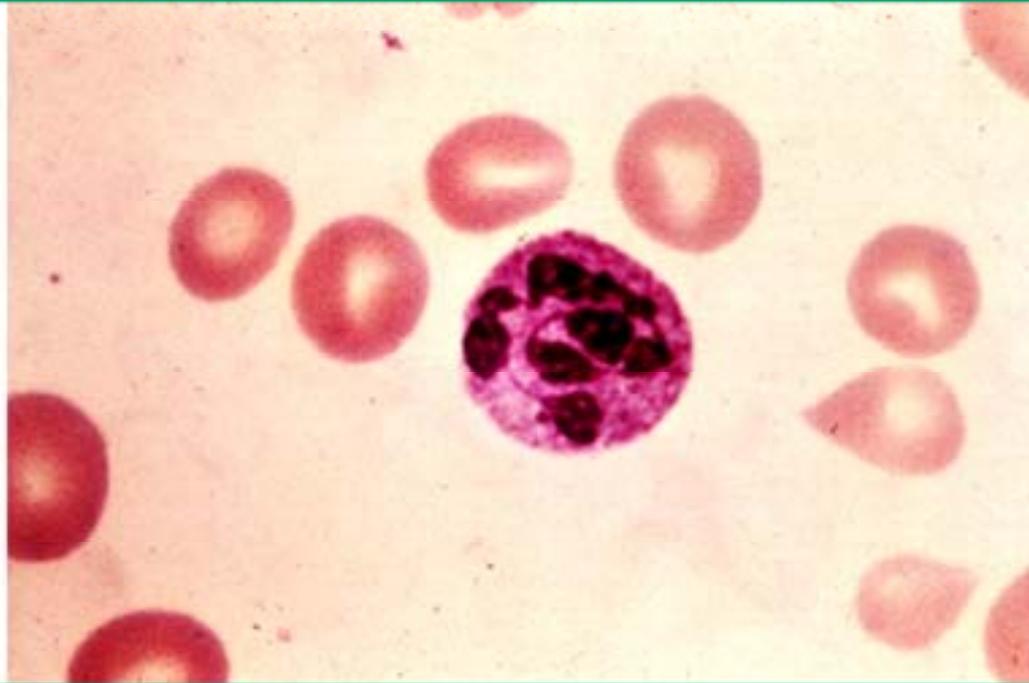


Peripheral blood smear shows a normal polymorphonuclear neutrophil (PMN). The nucleus is segmented into four lobes connected by thin chromatin strands. The cytoplasm is pink with fine, azure bluish granules. The predominant specific secondary granules are finely dispersed and stains the cytoplasm faintly pink.

Courtesy of Robert L Baehner, MD.



Hypersegmented neutrophil



Blood smear from a patient with megaloblastic anemia, showing a neutrophil with an increased number of nuclear lobes. At least six discrete lobes are present; normal neutrophils have five lobes or less.

Courtesy of Stephen A. Landaw, MD, PhD.



Pelger-Huet anomaly



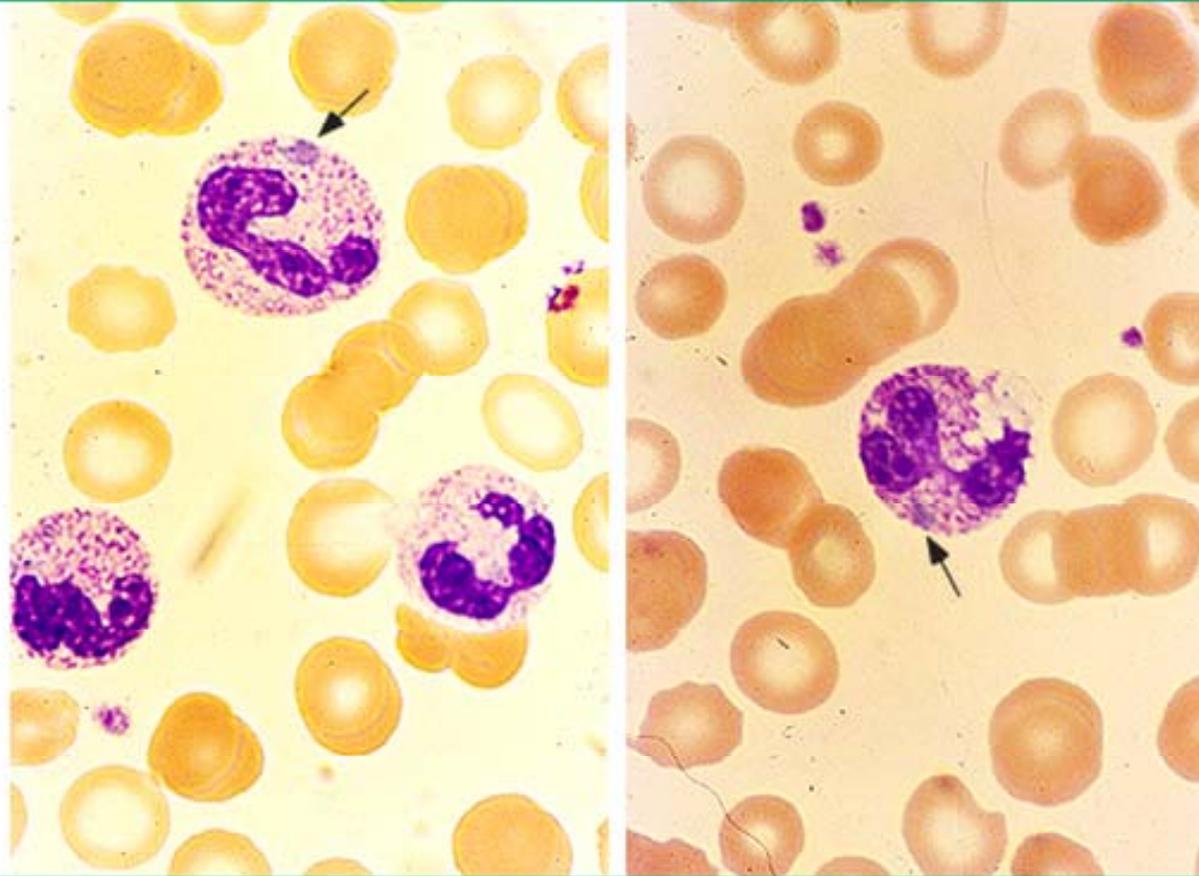
Peripheral blood smear from a patient with refractory anemia with excess blasts (RAEB) shows a neutrophil with a bilobed pseudo-Pelger-Huet (Pelgeroid) nucleus. The two lobes are connected by a thin strand (arrow) giving a "pince-nez" appearance. These nuclei look identical to those seen in the inherited Pelger-Huet anomaly. This neutrophil also has markedly reduced granulation, a finding commonly seen in the myelodysplastic syndromes.

From Brunning, RD, McKenna, RW. Tumors of the bone marrow. Atlas of tumor pathology (electronic fascicle), Third series, fascicle 9, 1994, Washington, DC. Armed Forces Institute of Pathology.

Anomalies des GB

- Granulations toxiques
- Corps de Dohle
- Myélodysplasies : dégranulation des neutros

Toxic granulations and Döhle bodies



Left panel: Peripheral blood smear shows neutrophils with toxic granulations, which are dark coarse granules. A Döhle body is also seen (arrow). Right panel: A neutrophil with toxic granulations, vacuoles (another toxic change), and a Döhle body (arrow). These abnormalities are characteristic of toxic systemic illnesses.

Courtesy of Carola von Kapff, SH (ASCP).

Conclusion

- FSC : source d'information importante
- Peut guider dans le diagnostic
- Permet le suivi de plusieurs pathologies