

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin (LLC et LAM)
Groupe sanguin ABO-RH1 et phénotype KEL1
RAI

Stéphanie ALBAREDE et Anne GUYARD (Afssaps)
Nicole CASADEVALL et Christophe MARZAC (Hôtel-Dieu - Paris)
Lucienne MANNESSIER (EFS – Lille)

Expédition : 13 avril 2005

Clôture : 9 mai 2005

Edition des compte-rendus individuels : 21 octobre 2005

Paramètres contrôlés : **05AF : Frottis sanguin**
05A5 : Groupe sanguin ABO-RH1 et phénotype KEL1
05A9 : RAI

Nombre de laboratoires concernés* : 4364

Nombre de laboratoires participants** : 4146

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Selon leur activité déclarée, les laboratoires ont reçu une lame de frottis sanguin 05AF coloré au MGG pour détermination de la formule sanguine et proposition d'hypothèses diagnostiques, un échantillon de sang total 05A5 pour groupage sanguin ABO-RH1 et détermination du phénotype KEL1 et un échantillon de sérum 05A9 pour recherche d'anticorps anti-érythrocytaires.

Dans ce cas particulièrement difficile mais bien réel d'association d'une leucémie lymphoïde chronique et d'une leucémie aiguë monocyttaire, 45 % des 3685 laboratoires ont cité ce double diagnostic. L'important était d'identifier les cellules blastiques dans ce contexte d'hyperlymphocytose et de s'appuyer sur l'ensemble des éléments du cas clinique qui avisait de la présence de deux hémopathies malignes.

Les résultats du groupe sanguin (A RH1 positif) sont très satisfaisants avec une seule réponse erronée pour ABO et pour RH1 parmi les 2816 réponses. Quant au phénotype KEL1, le pourcentage de faux négatifs rendus sur cet échantillon KEL1 a nettement diminué en comparaison des opérations de 2000 et 2003. L'amélioration des résultats est vraisemblablement liée à une réduction de l'utilisation de la technique en agglutination sur plaque ou en tube au profit des techniques en filtration et en microplaque.

En ce qui concerne la RAI, positive avec présence d'anticorps anti-KEL1, le taux de bonnes réponses en dépistage (99,4 % sur 2639 participants) est stable par rapport à l'opération de 2004 et on constate qu'il s'est amélioré régulièrement sur les 4 anticorps anti-KEL1 contrôlés depuis 1997. L'ensemble des 274 laboratoires ayant réalisé l'identification de l'anticorps ont conclu à un anti-KEL1. En 2002 déjà, le taux de bonnes réponses en identification sur un anti-KEL1 avait été de 100 %.

Méthode statistique et exploitation des résultats

Les paramètres statistiques : effectif, moyenne et écart-type sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires. Les paramètres statistiques sont ensuite recalculés après une troncature à 3 écart-types. Dans les tableaux de résultats figurent les effectifs non tronqués (n), la moyenne tronquée (mTr), l'écart-type tronqué (sTr) et le coefficient de variation (CVTr) calculé par la formule $100 \times sTr / mTr$. Pour les résultats de la formule sanguine, seuls les lymphocytes présentent une répartition gaussienne des valeurs donc pour tous les autres éléments, seule la médiane a été calculée.

Echantillon 05AF

Frottis sanguin

Définition de l'échantillon

Les laboratoires disposaient du cas clinique suivant :

Mr L., patient âgé de 60 ans, se présente aux urgences pour altération de l'état général et fièvre.

A l'examen clinique, on note une hypertrophie gingivale isolée. L'interrogatoire révèle trois épisodes d'angines en un mois, n'ayant pas été améliorés par une antibiothérapie.

Les analyses réalisées montrent les résultats suivants :

- Numération globulaire : Hb : 9,3 g/dl, GR : 2,91.10¹² /L, VGM : 97,3 fl, TCMH : 32,0, CCMH : 32,9, Ht : 28,3 %

Réticulocytes : 16,2 G/L, GB : 21,8 G/L, Plaquettes : 54 G/L

- Hémostase : TP : 56 %, TCA : 35 / 35 s, Fibrinogène : 1,74 G/L, Recherche de complexes solubles : positif, D-Dimères semi-quantitatif : > 5000 ng/ml

- Biochimie : LDH : 470 (N < 500)

Un premier examen cytologique a permis d'évoquer la coexistence de deux hémopathies malignes.

L'échantillon 05AF, frottis sanguin coloré au MGG, provenait d'un patient présentant une leucémie lymphoïde chronique et une leucémie aiguë monocytaire (figure 1). Les résultats de la formule sanguine sont présentés dans le tableau I.

tableau I - résultats attendus

	Valeurs cibles (%)
Polynucléaires neutrophiles	0
Polynucléaires éosinophiles	0
Polynucléaires basophiles	0
Lymphocytes	81
Monocytes	0
Blastes	19

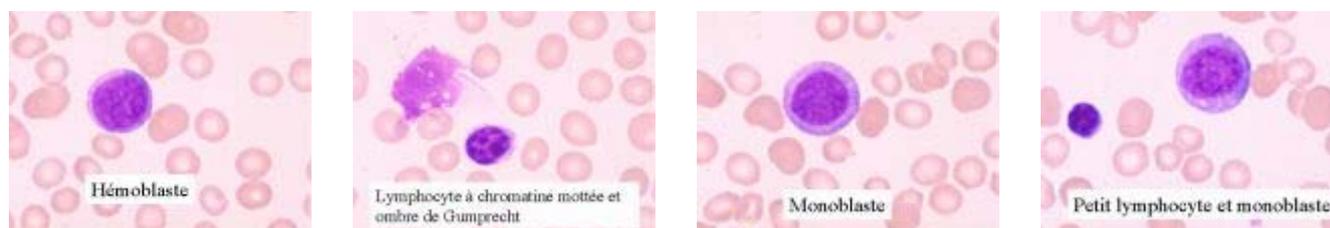
Commentaires des experts : Blastes, ombres de Gümprécht, autres cellules lymphoïdes anormales, promonocytes

Réponse attendue : Leucémie lymphoïde chronique et leucémie aiguë monocytaire

Réponses acceptées : Leucémie lymphoïde chronique ou hémopathie lymphoïde chronique et

Leucémie aiguë monocytaire ou leucémie aiguë myéloïde ou leucémie aiguë autre

figure 1 - éléments cellulaires caractéristiques du frottis 05AF



Résultats des participants

1 Analyse des réponses

Le frottis 05AF a été analysé par 3685 laboratoires. Le bordereau-réponse permettait de rendre la formule sanguine, de donner 1 à 4 commentaires à choisir dans une liste pré-établie et de formuler 1 à 3 couples d'hypothèses diagnostiques à choisir également dans une liste pré-établie. Les différents types de réponses sont détaillés dans le tableau II.

tableau II – types de réponses

Formule	Commentaires	Hypothèses diagnostiques	Nombre de laboratoires
X	X	X	3408
X		X	210
X	X		36
	X	X	4
X			27
Total			3685

2 - Formule sanguine

Les résultats des participants sont présentés sur le tableau III.

tableau III - formule 05AF

	n	mTr (%)	sTr (%)	CVTr (%)	médiane (%)
Polynucléaires neutrophiles	3681				1
Polynucléaires éosinophiles	3681				0
Polynucléaires basophiles	3681				0
Lymphocytes	3592	78,3	7,82	9,98	79
Monocytes	3681				0
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	3681				0
Myélémie	3681				0
Blastes	3681				17
Autre catégorie non prévue	3681				0
Erythroblastes	1427				0

Les médianes des résultats des participants sont en accord avec les valeurs cibles. Cependant, pour certains types cellulaires, la répartition des valeurs montre que certains résultats sont éloignés de leurs valeurs cibles. Compte tenu de l'absence de polynucléaires neutrophiles et de monocytes sur le frottis 05AF, un dénombrement inférieur à 2 % a été rendu par respectivement 3262 soit 89 % et 3187 soit 87 % des laboratoires (tableaux IV et V).

Les résultats rendus sur les blastes, présents sur ce frottis, sont notablement dispersés. De plus, 555 laboratoires soit 15 % n'ont pas rendu de blastes. Cependant la plupart de ces laboratoires a vraisemblablement fait figurer le décompte des cellules reconnues comme « anormales » dans les items « autre catégorie cellulaire », « myélémie », « cellules lymphoïdes hyperbasophiles » ou « monocytes » (tableaux V à IX).

Les érythroblastes ont été rendus à une valeur supérieure à zéro par 399 laboratoires (tableau X).

tableau IV - polynucléaires neutrophiles (PNN)

Nombre de PNN %	Nombre de laboratoires	Nombre de PNN %	Nombre de laboratoires
0	1651	[6– 20]	22
1	1611	[21– 36]	6
[2 – 5]	387	[75 – 88]	4

tableau V - monocytes

Nombre de monocytes %	Nombre de laboratoires	Nombre de monocytes %	Nombre de laboratoires
0	2498	[6– 20]	78
1	689	[21– 36]	10
[2 – 5]	401	[70 – 82]	5

tableau VI - cellules lymphoïdes hyperbasophiles (CLH)

Nombre de CLH %	Nombre de laboratoires	Nombre de CLH %	Nombre de laboratoires
0	3175	[21– 30]	68
[1 – 10]	242	[31– 50]	20
[11 – 20]	151	[51 – 99]	25

tableau VII - myélémie

Myélémie %	Nombre de laboratoires	Myélémie %	Nombre de laboratoires
0	3380	[11 – 20]	65
[1 – 5]	164	[21 – 30]	24
[6 – 10]	39	[31 – 85]	9

tableau VIII - blastes

Nombre de blastes %	Nombre de laboratoires	Nombre de blastes %	Nombre de laboratoires
0	555	[21 – 30]	979
[1 – 5]	182	[31 – 40]	121
[6 – 10]	308	[41 – 60]	30
[11 – 20]	1484	[61 – 99]	22

tableau IX - autre catégorie cellulaire

Nombre de autre %	Nombre de laboratoires	Nombre de autre %	Nombre de laboratoires
0	3064	[21 – 30]	119
[1 – 5]	116	[31 – 50]	17
[6 – 10]	123	[61 – 96]	17
[11 – 20]	225		

tableau X - érythroblastes

Nombre d'érythroblastes %	Nombre de laboratoires	Nombre d'érythroblastes %	Nombre de laboratoires
0	1028	[6 – 10]	27
[1 – 5]	326	[11 – 96]	46

3 – Commentaires descriptifs

Le bordereau réponse offrait la possibilité de faire quatre commentaires descriptifs sur les trois lignées cellulaires. Le nombre de laboratoires ayant fait au moins un commentaire est de 3449 ; leur répartition figure dans le tableau XI.

Les tableaux XII, XIII et XIV listent les commentaires cités par les laboratoires pour chacune des trois lignées cellulaires.

tableau XI - nombre de commentaires descriptifs du frottis 05AF

Nombre de commentaires	Nombre de laboratoires
1	597
2	1117
3	949
4	785

tableau XII - commentaires descriptifs du frottis 05AF : hématies

Commentaires : hématies	Nombre de laboratoires
Anisocytose	956
Hypochromie	333
Hématies en rouleaux	281
Poïkilocytose	256
Anisochromasie	103
Macrocytose	83
Schizocytes	76
Erythroblastes circulants	73
Polychromatophilie	69
Ponctuations basophiles	28
Dacryocytes	27
Hématies cibles	21
Microcytose	8
Corps de Jolly	6
Sphérocytose	5
Double population	5
Elliptocytose	2
Acanthocytes	2
Anneaux de Cabot	2
Corps de Heinz	2
Autres anomalies érythrocytaires	2
Stomatocytose	1
Ecchinocytes	1

tableau XIII - commentaires descriptifs du frottis 05AF : plaquettes

Commentaires : plaquettes	Nombre de laboratoires
Macroplaquettes	54
Autres anomalies plaquettaires	35
Mégacaryocyte circulant	6
Agrégats plaquettaires	1

tableau XIV - commentaires descriptifs du frottis 05AF : leucocytes

Commentaires : leucocytes	Nombre de laboratoires
Ombres de Gümprécht	2243
Cellules blastiques	1852
Autres cellules lymphoïdes anormales	378
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	366
Promonocytes ou monocytes immatures	356
Cellules plasmocytaires normales ou anormales	326
Prolymphocytes (nucléole unique évident)	280
Cellules lymphoïdes encochées ou à noyau irrégulier	147
Myélémie/précurseurs granuleux (PML/ML/MML)	132
Immunoblastes	115
Lymphocytes "villeux"	81
Tricholeucocytes	32
Grands lymphocytes granuleux	31
Cellules de Sézary	14
Neutrophiles autres anomalies	12
Lymphocytes binucléés	6
Neutrophiles hypogranuleux	5
Neutrophiles hyposegmentés	3
Neutrophiles vacuolisés	1

4- Hypothèses diagnostiques

Compte tenu du cas clinique qui annonçait la coexistence de deux hémopathies malignes, les laboratoires pouvaient émettre 3 couples d'hypothèses diagnostiques dans un ordre décroissant de probabilité. Dans ce cas de figure, 3622 laboratoires ont émis au moins une hypothèse diagnostique unique et 3448, au moins un couple de diagnostics. Le nombre de participants ayant rendu un seul couple est de 1251, deux couples : 981 et trois couples : 1053.

Le tableau XV liste l'ensemble des hypothèses diagnostiques émises.

Le tableau XVI présente par ordre de fréquence les couples d'hypothèses considérées comme étant les plus probables par les laboratoires.

tableau XV - ensemble des hypothèses diagnostiques émises sur le frottis 05AF

Diagnostic	Nombre de laboratoires
Leucémie lymphoïde chronique	3132
Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	1895
Suspicion de leucémie aiguë myéloïde	1032
Suspicion de leucémie aiguë autre	932
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	593
Suspicion de leucémie aiguë promyélocytaire	557
Phase leucémique de lymphome	433
Leucémie lymphoïde chronique "mixte"	409
Hémopathie lymphoïde chronique	369
Leucémie prolymphocytaire	345
Suspicion de leucémie/lymphome de l'adulte(ATLL)	153
Suspicion de lymphome à grandes cellules	125
Plasmocytose ou lymphoplasmocytose	109
Lymphome splénique à lymphocytes villeux	76
Suspicion de lymphome folliculaire	65
Suspicion de syndrome myélodysplasique	61
Suspicion d'anémie réfractaire	60
Anémie	56
Suspicion de leucémie myélomonocytaire chronique	47
Leucémie à tricholeucocytes	42
Suspicion de syndrome myéloprolifératif	39
Hémopathie à grands lymphocytes à grains	34
Suspicion de lymphome à cellules du manteau	33
Suspicion d'anémie mégaloblastique	27
Syndrome mononucléosique	26
Anémie macrocytaire	25
Anémie hémolytique	24
Lymphocytose non spécifique	19
Leucémie myéloïde chronique	18
Anomalies prédominantes des cellules lymphoïdes	18
Suspicion de métastases médullaires	16
Affections lymphoïdes non malignes	16
Erythroblastose	15
Myélofibrose	13
Suspicion de splénomégalie myéloïde	5
Monocytose	5
Lymphocytose à lymphocytes binucléés	5
Myélémie	4
Anémie microcytaire hypochrome	4
Pathologie myéloïde non spécifique	3
Thrombocythémie ou thrombocytose	3
Anomalies prédominantes des plaquettes	3
Suspicion d'anomalie de l'hémoglobine	2
Pathologie constitutionnelle	1
Polyglobulie	1

tableau XVI - principaux couples d'hypothèses diagnostiques les plus probables sur le frottis 05AF (couples dont l'effectif est supérieur à 10)

Couples d'hypothèses diagnostiques		Nombre de laboratoires
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	1322
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie aiguë myéloïde	505
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie aiguë autre	205
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie aiguë promyélocytaire	183
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	177
Leucémie lymphoïde chronique	Leucémie prolymphocytaire	144
Leucémie lymphoïde chronique	Phase leucémique de lymphome (autre type)	82
Leucémie lymphoïde chronique	Leucémie lymphoïde chronique "mixte"	66
Leucémie lymphoïde chronique	Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	45
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de lymphome à grandes cellules	39
Leucémie lymphoïde chronique	Plasmocytose ou lymphoplasmocytose non spécifique	36
Suspicion de leucémie aiguë promyélocytaire	Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	27
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	26
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie/lymphome de l'adulte(ATLL)	25
Leucémie lymphoïde chronique "mixte"	Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	23
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion d'anémie réfractaire	16
Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	16
Leucémie lymphoïde chronique "mixte"	Leucémie prolymphocytaire	15
Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	Phase leucémique de lymphome (autre type)	14
Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	Lymphome splénique à lymphocytes villeux	14
Leucémie lymphoïde chronique	Suspicion de leucémie myélomonocytaire chronique	13
Suspicion de leucémie aiguë monocyttaire	Suspicion de leucémie aiguë autre	13
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	Suspicion de leucémie aiguë myéloïde	11
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	Phase leucémique de lymphome (autre type)	11
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	11

 Réponses acceptées

Une trentaine de laboratoires a précisé de façon manuscrite « syndrome de Richter » ou « transformation d'une LLC ». Ces diagnostics ont été pris en compte sous le double intitulé « Leucémie lymphoïde chronique » et « Phase leucémique de lymphome (autre type) ».

5 – Bilan des réponses au frottis

Ce frottis comportait deux types d'éléments à identifier : des lymphocytes en nombre élevé (environ 80 %) et des blastes (17 à 19 % de monoblastes) et l'absence de toute autre cellule. En fonction du nombre de cellules lysées, variable d'un frottis à l'autre, on pouvait trouver nettement moins de lymphocytes. Rappelons que la formule manuelle est très souvent faussée par les ombres de Gümprécht dans les LLC. Sur ce frottis, 98 % des laboratoires ont donné des résultats de lymphocytes supérieurs à 30 %. Quant aux blastes, 85 % des laboratoires en ont noté au moins un sur leur formule. Ainsi, 15 % (soit 555 laboratoires) n'ont pas rendu de blastes mais la plupart de ces laboratoires qui n'ont pas reconnu les blastes comme tels les a fait figurer dans les items « autre catégorie cellulaire », « myélémie », « cellules lymphoïdes hyperbasophiles » ou « monocytes ».

Neuf réponses ne comportent que des lymphocytes (avec une formule à 100 %) et ces laboratoires ont conclu à une leucémie lymphoïde chronique.

La réponse attendue « leucémie lymphoïde chronique et leucémie aiguë monocyttaire » a été rendue par 1332 laboratoires en première hypothèse soit 36 %. Ils sont 1665 (45 %) à l'avoir citée parmi l'un des trois couples d'hypothèses possibles.

Si l'on tient compte de l'ensemble des réponses acceptées [Leucémie lymphoïde chronique ou hémopathie lymphoïde chronique] et [Leucémie aiguë monocyttaire ou leucémie aiguë myéloïde ou leucémie aiguë autre], le pourcentage de bonnes réponses est de 56 % en première hypothèse et de 71 % sur l'ensemble des trois couples d'hypothèses.

Considérés isolément, le diagnostic « leucémie lymphoïde chronique » a été rendu par 85 % des participants et « leucémie aiguë monocyttaire » par 51 % des participants.

Par ailleurs, aucun laboratoire n'a donné de réponse « sang normal ».

Commentaires

L'énoncé du cas clinique comportait 3 éléments majeurs, caractéristiques de certaines hémopathies malignes : syndrome tumoral très particulier à type d'hypertrophie gingivale, hyperleucocytose et CIVD biologique. Le cytologiste n'était donc pas surpris de constater la présence de grands blastes à noyau arrondi et régulier avec un volumineux nucléole et à cytoplasme bien basophile contenant parfois quelques grains azurophiles, évoquant des monoblastes. Le décompte relevait environ 15% de blastes et 85% de lymphocytes. Si l'on s'en tenait là, on évoquait le diagnostic de leucémie aiguë et l'on conseillait de réaliser en urgence (à cause de la CIVD) un myélogramme avec cytogénétique, normalement complété par un phénotype et une congélation de blastes.

Néanmoins, lors de l'établissement de la formule sanguine, on remarquait que cette probable LAM s'associait à une hyperlymphocytose nette (environ 18 G/l). Cette lymphocytose monomorphe était constituée de petits lymphocytes matures, à haut rapport nucléo-cytoplasmique et à chromatine mottée. On pouvait également noter la présence d'ombres de Gümprécht. Cet aspect n'était pas en faveur d'une lymphocytose réactionnelle mais au contraire très évocatrice d'une hémopathie lymphoïde chronique de type LLC (leucémie lymphoïde chronique). Dans ce cas, il est donc légitime de demander aussi un phénotypage lymphocytaire.

A ce stade, le cytologiste pouvait légitimement être perplexe : fallait-il suspecter d'emblée une double hémopathie, LAM5 (FAB) + LLC, ou bien devait-on tenter de rester uniciste selon la règle habituelle en cancérologie ?

Ces grandes cellules à volumineux nucléole central pouvaient-elles être des prolymphocytes évoquant alors le diagnostic de leucémie prolymphocytaire B si le nombre de cellules est supérieur à 55 % ou LLC mixte si elles sont comprises entre 10 et 55 % ? La taille des cellules, les chromatines blastiques et la présence fréquente de plusieurs volumineux nucléoles devaient faire écarter formellement cette hypothèse. En outre certains blastes présentaient quelques grains azurophiles dans leur cytoplasme.

Pouvait-il s'agir de cellules d'un lymphome à grandes cellules (immunoblastique) développé sur une LLC (syndrome de Richter) ? Morphologiquement, compte tenu de la variabilité observée dans les lymphomes à grandes cellules, le doute était légitime. Par contre, l'association d'une CIVD biologique et d'une absence d'élévation de la LDH allaient à l'encontre du diagnostic.

Conclusion

Il était important d'observer la présence de cellules blastiques faisant suspecter une leucémie aiguë monoblastique. L'hyperlymphocytose et la présence d'ombres de Gümprécht ne devaient pas perturber le raisonnement. En effet, la LLC peut communément s'associer à d'autres hémopathies malignes. Chez ce patient, le phénotypage a confirmé l'association d'une LLC typique (score 5 de Matutes) (tableau XVII) et d'une LA monoblastique. Le patient a été traité pour sa LAM et est actuellement en rémission complète de celle-ci mais conserve un clone de LLC détectable.

Ce cas particulièrement difficile mais bien réel nous semble illustrer à la fois l'importance et les limites de la cytologie hématologique, qui reste cependant la véritable clef de voûte de la prise en charge d'urgence des hémopathies malignes.

tableau XVII : score de Matutes : il attribue un score à chacun des 5 marqueurs suivants

Antigène	Attribuer 1 point si	0 point si
CD5	Positif	Négatif
CD23	Positif	Négatif
CD22 ou CD79b	Faiblement exprimé	Expression non faible
FMC7	Négatif	Positif
Ig membranaire	Faiblement exprimée	Expression non faible

Une LLC doit avoir un score total de 5 ou 4 (53%, 35% et 10% des LLC ont des scores respectivement de 5, 4, et 3). Des scores inférieurs à 3 excluent une LLC (correspondent à des lymphomes non hodgkiniens LNH-B leucémisés).

Echantillon 05A5 (Jean)

Groupe sanguin ABO-RH1 et phénotype KEL1

Définition de l'échantillon

L'échantillon 05A5 (Jean) est un sang natif d'origine humaine prêt à l'emploi, provenant de donneurs de groupe A RH1 (D positif) et de phénotype KEL :1 (Kell positif).

Les experts suivants : Dr L. Mannessier, EFS Lille - Dr B. Cavelier, EFS Bois-Guillaume - Dr J. Chiaroni, EFS Marseille - Dr A. Lejealle, EFS Le Chesnay - Dr F. Roubinet, EFS Tours ont testé l'échantillon.

Les experts ont confirmé de façon unanime le groupe sanguin et le phénotype de l'échantillon 05A5.

Résultats des participants

Le nombre total de participants est de 2816. Ces laboratoires ont réalisé l'une au moins des 3 analyses suivantes : groupe sanguin ABO et RH1 ou phénotype KEL1.

Conformément à la nouvelle réglementation (arrêté du 26 avril 2002 relatif aux bonnes pratiques de laboratoire en immuno-hématologie érythrocytaire), si les opérations de groupage sanguin ABO-RH1 et de phénotypage RH-KEL1 sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV de cet arrêté, une détermination repose sur une réalisation. Dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents.

Dans le cadre de cette opération de contrôle de qualité, nous n'avons pris en compte la deuxième série de réactifs (ABO-RH1 et KEL1) que dans le cas où elle était différente de la première.

1 – Groupages sanguins ABO-RH1

Les réponses aux groupages sanguins ABO-RH1 des 2815 laboratoires participants figurent sur le tableau XVIII.

tableau XVIII – réponses ABO-RH1

	Total des réponses	Bonnes réponses
Réponses ABO	2811	2810 réponses « A » soit 99,9 %
Réponses RH1	2814	2813 réponses « RH1 positif » soit 99,9 %

La réponse ABO erronée (groupe « AB ») et la réponse erronée « RH :-1 (D négatif) » proviennent de deux laboratoires différents.

Le nombre de participants (2815) correspond à une diminution de 11,4% par rapport au contrôle de l'année 2003 (03HEM2).

2 – Phénotype KEL

Les réponses au phénotype KEL1 des 2738 laboratoires participants figurent sur le tableau XIX.

tableau XIX – réponses phénotype KEL1

Réponses	Nombre de réponses
Positif	2711
Négatif	24 soit 0,9 %
Douteux	2
Discordance entre les 2 réactifs	1

Les réponses présentées selon les réactifs (tableau XX) ont été obtenues avec un seul réactif ou deux réactifs différents selon les cas, ce qui explique que le total des tests est de 3855. En effet, 1117 laboratoires ont utilisé deux réactifs différents et 2738 n'ont utilisé qu'un seul réactif (un même réactif a pu être utilisé lors d'une seule ou de deux réalisations).

tableau XX : réponses au phénotype KEL1 selon le réactif (avec un ou deux réactifs différents)

Technique / Réactif anti-KEL1	Réponses				Total	% K :-1
	Positif	Négatif	Douteux	Discordance		
Agglutination directe plaque ou tube	1047	17	1	1	1066	1,6
BIORAD Transclone Clone MS56 New	150	3			153	2,0
BIOTEST Seraclone Clone MS56	3				3	
DIAGAST Anti-K (KEL1)	114	4			118	3,4
DIAGAST Phenokit	90	3			93	3,2
DIAMED Diaclon clone MS 56	40	1			41	2,4
EUROBIO Gamme Euclone : anti-Kell clone MS56	109				109	
IMMUCOR Gamme 2 MS56	5				5	
INSTITUT J.BOY Clone MS56	488	6	1	1	496	1,2
ORTHO Bioclone : clone MS56	48				48	
Filtration	2327	12	1	1	2341	0,5
BIORAD Scangel Monoclonal Rh/K phenotype	400	3			403	0,7
BIORAD Scangel ABO Complete RH/K Duo		1			1	NC
DIAMED ID Diaclon Rh sous groupes+ K	749	5			754	0,7
DIAMED ID Serum humain Polyclonal	50	2			52	3,8
DIAMED ID-C, Cw, c, E, e, K	8				8	
DIAMED ID-C, c, E, e, K	411	1	1		413	0,2
DIAMED ID-Diaclon ABO/Rh + epr sérique + ID-Diaclon phéno Rh K	328			1	329	
ORTHO Biovue system	381				381	
Microplaque	403	4	0	0	407	1,0
BIOTEST Erytype RH+K 16 single	2				2	
BIOTEST Erytype variant 053	4				4	
BIOTEST Erytype S RH+K reagent1	24				24	
BIOTEST Erytype S RH+K	6				6	
DIAGAST Olymp Pheno	5				5	
DIAGAST Phenolic	10				10	
DIAGAST Microscreen	1				1	
DIAGAST Anti-K (KEL1) Phenolic	32				32	
DIAGAST Anti-K (KEL1) Microscreen	9				9	
DIAGAST Olymp Screen	2				2	
DIAGAST DuoMicro	122	3			125	2,4
DIAGAST DuoLys	24	1			25	4,0
DIAGAST PhenoMicro	11				11	
DIAGAST PhenoLys	3				3	
DIAGAST Duo 2D Micro	5				5	
DIAGAST Duo 2 Lys	1				1	
IMMUCOR Microplaque MS56	25				25	
INSTITUT J.BOY Clone MS56 pour microplaque	100				100	
ORTHO MicroTop	17				17	
Coombs tube lecture directe						
DIAMED Anti Kell : Coombs Indirect	5				5	
Réactif non précisé ou autre	36				36	
Tous réactifs confondus	3818	33	2	2	3855	0,9

NC : non calculé (total inférieur ou égal à 10)

Discordance : discordance de résultat entre les deux réactifs

Commentaires

Le nombre de laboratoires participant au phénotypage KEL1 (2711) a diminué de 9,4 % par rapport au contrôle de 2003 (03HEM2).

Le nombre de mauvaises réponses (faux négatifs) pour l'antigène KEL1 (24 laboratoires correspondant à 33 tests soit 0,9 %) s'est incontestablement réduit en 2005 en comparaison des résultats des années précédentes : 3,1 % en 2000 et 3,4 % en 2003.

Comme en 2000 et 2003, on constate que c'est avec la technique par filtration que le pourcentage de mauvais résultats est le plus faible (0,5 %). Les techniques par agglutination directe en plaque ou en tube et l'agglutination en microplaque montrent, sur l'échantillon 05A5 du Contrôle national de qualité, des pourcentages de mauvaises réponses respectivement de 1,6 et 1,0 % (tableau XX).

La répartition des techniques utilisées (tableau XXI) montre que la diminution du nombre de laboratoires pratiquant le phénotype KEL1 s'accompagne d'un désintérêt pour la technique en agglutination sur plaque ou en tube au profit des techniques en filtration et en microplaque.

tableau XXI : répartition des techniques utilisées rapportée au nombre de tests total

Techniques	2003	2005
Agglutination directe plaque ou tube	34,5 %	27,7 %
Filtration	57,5 %	60,7 %
Microplaque	7,0 %	10,6 %

Lors de cette opération 05HEM1, les laboratoires devaient préciser la date à laquelle a été effectuée la détermination du phénotype KEL1. En effet, d'après les instructions jointes aux échantillons, il était conseillé de pratiquer le phénotype KEL1 dans les 48 heures après réception du colis. Pour cette expédition, la traçabilité du transporteur montre que 99 % des colis ont été livrés en France métropolitaine en 48 heures soit le 14 ou le 15 avril 2005. La date limite souhaitable de détermination du phénotype peut donc être fixée au 18 avril.

L'analyse des dates d'exécution du phénotype a permis de relever 2637 dates exploitables (jour et mois compatibles avec les délais de l'opération 05HEM1). On a dénombré 71 % de laboratoires ayant réalisé le phénotype entre le 14 et le 18 avril et 93 % entre le 14 et le 30 avril.

Même dans le cadre du Contrôle National de Qualité où l'échantillon est un sang natif, le délai d'exécution rapide du phénotype KEL1 est recommandé puisque le pourcentage de réponses « KEL1 négatif » est de 0,26 % jusqu'au 18 avril (soit 5 jours après l'expédition des échantillons) et de 2,26 % au-delà du 18 avril.

L'amélioration des résultats du phénotype KEL1 semble pouvoir s'expliquer par la diminution du nombre de tests réalisés en agglutination directe en plaque ou en tube, technique avec laquelle les pourcentages de mauvaises réponses sont plus élevés qu'avec les autres techniques. De plus, la recommandation de réaliser le phénotype KEL1 dans les 48 heures après réception de l'échantillon a pu réduire les délais de mise en œuvre du test.

Echantillon 05A9

RAI

Définition de l'échantillon

L'échantillon 05A9 est un sérum liquide, d'origine humaine, dilué en sérum de groupe sanguin AB et prêt à l'emploi, contenant un anticorps anti-KEL1.

Les experts suivants : Dr L. Mannessier, EFS Lille - Dr B. Cavelier, EFS Bois-Guillaume - Dr J. Chiaroni, EFS Marseille - Dr A. Lejealle, EFS Le Chesnay - Dr F. Roubinet, EFS Tours ont testé l'échantillon.

Les experts ont confirmé de façon unanime la réponse attendue :

Dépistage : réaction positive, présence d'anticorps anti-érythrocytaires

Identification : spécificité anti-KEL1

Résultats des participants

1 – Dépistage

La réponse attendue (RAI positive) a été rendue par 99,4 % des laboratoires participants (tableau XXII).

tableau XXII – résultats du dépistage

	Nombre	%
Participants	2639	
Bonnes réponses (RAI positive)	2622	99,4
Mauvaises réponses (RAI négative)	17	0,6

Les tableaux XXIII et XXIV présentent les effectifs d'utilisateurs de réactifs et d'hématies utilisées pour le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires.

tableau XXIII : réactifs utilisés pour le test de dépistage (test indirect à l'antiglobuline)

Dépistage RAI : test indirect à l'antiglobuline	Nombre d'utilisateurs
BIORAD Capture R Ready screen 4 cellules	13
BIORAD Scangel anti IgG	4
BIORAD Scangel Coombs + neutral	193
BIORAD Scangel Coombs IgG,-C3d	181
BIOTEST Solidscreen II Strip / Compact	26
DIAMED ID-Card Anti-IgG	22
DIAMED ID-Card DiaScreen	130
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	966
DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	637
DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	1
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	269
ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	182
ORTHO BioVue system anti-IgG/antiC3b,C3d(DAT/IDAT)	2
ORTHO BioVue system neutral	5

tableau XXIV : hématies utilisées pour le dépistage

Dépistage RAI : hématies tests	Nombre de laboratoires
BIORAD Scangel / EryScan	3
BIORAD Scangel / ScanCell	320
BIORAD Scangel / ScanCell P	36
BIORAD Scangel / ScanPanel	2
BIORAD Scangel / ScanPanel P	1
BIORAD panel d'identification concentré	2
BIOTEST Biotestcell P3	26
DIAMED ID Diacell ABO / I II III	135
DIAMED ID Diacell I II III	1369
DIAMED ID Diacell I II III P	74
DIAMED ID Diapanel P	4
DIAMED ID DiaPanel Plus 6	1
DIAMED ID Diascreen (1-4)	4
DIAMED ID Diascreen (1-6)	70
DIAMED ID Diascreen (5-6) P	34
EUROBIO Formule 3	67
ORTHO 4% BioVue Screen Ficine	171
ORTHO 4% BioVue Screen Papaïne	237
ORTHO 4% BioVue TOP	9
ORTHO 0,8% Surgiscreen	1

2 – Identification

Le pourcentage de bonnes réponses en identification est de 100 % (tableau XXV).

tableau XXV – résultats de l'identification

	Nombre	%
Participants	274	
Bonnes réponses : anti-KEL1	274	100

Le tableau XXVI répertorie les couples de techniques (test indirect à l'antiglobuline et test aux enzymes). Les tableaux XXVII et XXVIII présentent les hématies utilisées par les participants pour l'étape d'identification.

tableau XXVI – couples de réactifs utilisés pour l'identification

Identification RAI		Nombre de laboratoires
Test indirect à l'antiglobuline	Test aux enzymes	
BIORAD Scangel Coombs IgG,-C3d	BIORAD Scangel neutral	25
BIORAD Scangel Coombs IgG,-C3d	BIORAD Scangel Coombs + neutral	2
BIORAD Scangel Coombs IgG,-C3d		1
BIORAD Scangel anti IgG	BIORAD Scangel neutral	1
DIAMED ID-Card Anti-IgG	DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	2
DIAMED ID-Card Anti-IgG	DIAMED ID-NaCl / enzymes	1
DIAMED ID-Card Anti-IgG	DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	1
DIAMED ID-Card DiaScreen	DIAMED ID-Card DiaScreen	2
DIAMED ID-Card DiaScreen	DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	1
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	79
DIAMED ID-Card LISS/Coombs		33
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	DIAMED ID-NaCl / enzymes	25
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	3
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	DIAMED ID-Card LISS/Coombs	2
DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	17
DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	3
DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test		2
DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	DIAMED ID-Card LISS/Coombs	1
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	ORTHO BioVue system neutral	39
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)		15
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	2
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	1
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	1
ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	6
ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)		3
ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	ORTHO BioVue system neutral	3
ORTHO BioVue system neutral	ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	1

tableau XXVII– hématies utilisées pour l'identification avec un test indirect à l'antiglobuline

Identification RAI : test indirect à l'antiglobuline	
Hématies tests	Nombre de laboratoires
BIORAD Scangel / ScanCell	1
BIORAD Scangel / ScanCell P	1
BIORAD Scangel / ScanPanel	26
BIORAD panel d'identification concentré	16
CNRGS panel national de référence	73
DIAMED ID Diacell I II III	3
DIAMED ID Diacell I II III P	1
DIAMED ID Diapanel	172
DIAMED ID Diapanel P	6
DIAMED ID DiaPanel Plus 6	2
EUROBIO Formule 3	1
ORTHO 4% BioVue Screen Ficine	1
ORTHO 4% BioVue TOP	60

tableau XXVIII– hématies utilisées pour l'identification avec un test aux enzymes

Identification RAI : test aux enzymes	
Hématies tests	Nombre de laboratoires
BIORAD Scangel / ScanCell P	3
BIORAD Scangel / ScanPanel	1
BIORAD Scangel / ScanPanel P	22
BIORAD panel d'identification concentré	13
CNRGS panel national de référence	49
DIAMED ID Diacell I II III P	2
DIAMED ID Diapanel	6
DIAMED ID Diapanel P	127
EUROBIO Formule 3	1
ORTHO 4% BioVue Screen Ficine	1
ORTHO 4% BioVue TOP	49

Commentaires

L'effectif de 2639 participants à la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires correspond à une diminution de 5,8 % par rapport à l'opération de 2004 (04HEM1). Les laboratoires participant à l'identification sont légèrement plus nombreux : 267 en 2004 pour 274 en 2005. Le taux de bonnes réponses en dépistage est stable : 99,4 % en 2004 et en 2005, même si le sérum de 2004 était différent et contenait un mélange d'anticorps anti-FY1 et anti-MNS3. Les 17 mauvaises réponses en dépistage en 2005 ne sont pas attribuables à un réactif en particulier. Un questionnaire adressé aux 17 laboratoires concernés a montré la prédominance d'erreurs pré-analytiques (erreurs d'échantillon : RAI effectuée sur l'échantillon destiné au groupage sanguin) et post-analytiques (erreurs de saisie informatique et de transcription).

Concernant l'identification de cet anticorps anti-KEL1, tous les laboratoires pratiquant l'identification ont donné la bonne réponse. Le taux de bonnes réponses n'était que de 95,5 % en 2004 mais le sérum contenait un mélange d'anticorps anti-FY1 et anti-MNS3, plus délicat à identifier.

On constate que l'identification d'un anti-KEL1 est bien maîtrisée car, déjà en 2002 (02HEM1), le taux de bonnes réponses en identification était de 100 %. Ces résultats satisfaisants montrent la progression obtenue depuis les années 1997 et 1998 où les taux d'identification d'un anti-KEL1 au Contrôle National de Qualité étaient seulement de 95,3 % (97HEM1) et 97,4 % (98HEM3).

De même, les pourcentages de dépistages positifs sur un sérum contenant un anti-KEL1 se sont améliorés depuis 1997 : 96,6 % en 1997, 98,7 % en 1998, 99,0 % en 2002 et 99,4 % en 2005.

Bibliographie

RAI : 10 ans de Contrôle National de Qualité. A. Guyard - Bulletin du Contrôle national de Qualité des analyses de biologie médicale n° 4 – Octobre 2005.

Conclusion

- Le frottis 05AF comportait deux types d'éléments à identifier : des lymphocytes en nombre élevé (81 %) et des blastes (19 % de monoblastes) et l'absence de toute autre cellule. Les grandes cellules rondes et basophiles faisaient discuter la présence de monoblastes ou de lymphoblastes. Le contexte de leucémie lymphoïde chronique (81 % de petits lymphocytes matures et des ombres de Gümprécht) pouvait orienter à tort vers un syndrome de Richter. Mais l'énoncé du cas clinique, notamment la CIVD et l'hypertrophie gingivale, constituait un argument en faveur d'une leucémie aiguë monocyttaire. En effet, 45 % des laboratoires ont rendu la réponse correspondant à la pathologie du patient, soit leucémie lymphoïde chronique et leucémie aiguë monocyttaire.

En élargissant à l'ensemble des réponses acceptées, à savoir [Leucémie lymphoïde chronique ou hémopathie lymphoïde chronique] et [Leucémie aiguë monocyttaire ou leucémie aiguë myéloïde ou leucémie aiguë autre], 71 % des laboratoires ont cité au moins l'une d'entre elles.

- Les résultats des groupages sanguins sur l'échantillon 05A5 sont tout à fait satisfaisants avec 99,9 % de réponses A RH1 positif. Les résultats du phénotypage KEL1, avec 99 % de réponses positives, sur ce même échantillon se sont améliorés par rapport aux années 2000 et 2003. La diminution du nombre de tests réalisés en agglutination directe en plaque ou en tube et le fait que presque trois quarts des phénotypages aient été réalisés dans les 4 jours après réception de l'échantillon de contrôle ont pu contribuer à l'amélioration des résultats.

- Quant à la RAI réalisée sur l'échantillon 05A9, le taux de bonnes réponses en dépistage (99,4 % de réponses positives) est élevé et stable par rapport à ces dernières années. Les résultats de l'identification de l'anticorps sont très satisfaisants avec 100 % de réponses anti-KEL1. Par ailleurs, l'effectif des laboratoires pratiquant les RAI a diminué de 5 % par rapport à 2004 et de 20 % depuis 1995.