

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Hématologie

14HEM2

décembre 2014

**Antithrombine, protéine S et protéine C
Frottis sanguin**

décembre 2015

Anne GUYARD (Ansm)
Christophe MARZAC (Hôpital Saint-Antoine - Paris)
Marie-Hélène HORELLOU (Hôpital Cochin - Paris)

Expédition : 3 décembre 2014
Clôture : 5 janvier 2015
Edition des compte-rendus individuels : 6 juillet 2015
Paramètres contrôlés : **14B3 et 14B4 : Antithrombine, protéine S et protéine C**
14BF-Fara et 14BG-Gill : Frottis sanguin

Nombre de laboratoires concernés* : 1250
Nombre de laboratoires participants** : 1187

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer les analyses concernées par l'envoi
** Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur le site de l'ANSM avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

L'opération 14HEM2 comportait deux échantillons pour dosage de l'antithrombine, de la protéine C et de la protéine S, ainsi que deux frottis sanguins.

L'antithrombine a été dosée par 436 laboratoires, en grande majorité par la mesure de l'activité fonctionnelle (dosage fonctionnel). Sur les deux échantillons, 14B3 (niveau bas ~35 %) et 14B4 (niveau normal ~88 %), les résultats sont globalement satisfaisants.

De même, le dosage de la protéine C et de la protéine S, par environ 170 laboratoires, a été majoritairement réalisé par des méthodes fonctionnelles, les méthodes immunologiques étant pratiquées en deuxième intention. Pour la protéine C, les échantillons 14B3 et 14B4 présentaient un niveau normal, proche de 100 %. Pour la protéine S, l'échantillon 14B4 était abaissé, de l'ordre de 39 % et l'échantillon 14B3 supérieur à 100 %. Les résultats de la protéine C et de la protéine S sont également globalement satisfaisants.

Au cas clinique qui concernait l'échantillon 14B4, 94 % des laboratoires ayant dosé uniquement l'antithrombine ont répondu comme attendu « résultats normaux sur les paramètres analysés ». Quant aux laboratoires ayant dosé les trois paramètres (antithrombine, protéine C et protéine S), ils sont 65 % à avoir rendu l'interprétation exacte « déficit en protéine S » comme première interprétation, alors que 98 % ont bien conclu en faveur d'un résultat abaissé de protéine S.

Le frottis 14BF-Fara, provenant d'un patient présentant un syndrome mononucléosique, comportait plus de 60 % de lymphocytes et de cellules lymphoïdes hyperbasophiles, ainsi que des corps apoptotiques et des lymphocytes activés. L'hypothèse diagnostique attendue « syndrome mononucléosique » a été rendue par 72,4 % des laboratoires. Les résultats sont relativement satisfaisants (85 %) si l'on intègre également la réponse acceptable « lymphocytose non spécifique ». Un frottis similaire envoyé en 2012 avait montré un ensemble de 87 % de réponses attendues et acceptables.

Sur le frottis 14BG-Gill, caractérisé par la présence d'environ 70 % de plasmocytes, 61 % des laboratoires ont rendu le diagnostic attendu « leucémie à plasmocytes » (ou « myélome »). Correspondant à une hémopathie rare, le frottis 14BG a été considéré comme pédagogique.

Méthode statistique et exploitation des résultats

Les paramètres statistiques : effectif, médiane, moyenne et écart-type sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires.

L'élimination des valeurs extrêmes est réalisée par la méthode de Tukey, puis les paramètres statistiques sont déterminés après une troncature à 3 écarts-types. Cette procédure a été appliquée au groupe toutes techniques et à chaque groupe technique. Les paramètres statistiques ont été rendus pour des effectifs ≥ 6 .

Dans les tableaux de résultats figurent selon les cas :

- les effectifs non tronqués (n) après élimination des valeurs aberrantes (méthode de Tukey)
- la médiane et l'intervalle interquartile (percentiles 25 et 75 : P25 - P75) ou la moyenne tronquée (mTr), l'écart-type tronqué (sTr) et le coefficient de variation tronqué (CVTr) calculé par la formule $100 \times sTr / mTr$.

Echantillons 14B3 et 14B4

Recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thromboembolique veineuse

Définition des échantillons

Les échantillons 14B3 et 14B4 sont des plasmas lyophilisés d'origine humaine.

Les résultats des référents M-H. Horellou, Paris – M. Alhenc-Gelas, Paris – D. Lasne, Paris sont présentés dans le tableau I.

tableau I – résultats des référents : antithrombine, protéine C et protéine S

		Echantillon 14B3		Echantillon 14B4	
		n	Médiane (%)	n	Médiane (%)
Antithrombine	dosage fonctionnel	3	35	3	89
	dosage immunologique	2	38	2	88,5
Protéine C	dosage fonctionnel méthode coagulante	3	104	3	104
	dosage fonctionnel méthode amidolytique	1	120	1	101
	dosage immunologique	2	103	2	100,5
Protéine S	dosage fonctionnel	3	140	3	44
	dosage immunologique - protéine S libre Ag	2	144	2	39,5

Résultats des participants

Le nombre de laboratoires ayant pratiqué au moins une des analyses du bilan de thrombose est de 436. La répartition des analyses réalisées par laboratoire figure dans le tableau II.

tableau II – répartition des analyses réalisées par laboratoire

Antithrombine	Protéine S	Protéine C	Effectif (%)
x	-	-	267 (61 %)
x	x	x	161 (37 %)
x	-	x	8 (2 %)
Total			436

1 – Antithrombine

Le nombre de laboratoires ayant réalisé le dosage de l'antithrombine est de 436 (dosage fonctionnel ou immunologique) ; 21 laboratoires ont pratiqué les deux types de dosage.

1-1 Antithrombine - dosage fonctionnel ou mesure de l'activité cofacteur de l'héparine

434 laboratoires ont réalisé le dosage de l'antithrombine par une méthode fonctionnelle (413 ont rendu la mesure de l'activité et pas le dosage immunologique). Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux III et IV.

tableau III – antithrombine – dosage fonctionnel : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
HYPHEN BIOMED Biophen AT (anti-Xa)	2
HYPHEN BIOMED Biophen AT (anti-Xa) Liquide	3
IL HemosIL Antithrombin	9
IL HemosIL Liquid Antithrombin	75
ROCHE AT / Antithrombin III	19
SIEMENS Berichrom Antithrombine III	9
SIEMENS Innovance Antithrombine	15
STAGO STA Stachrom AT III	301
Autre	1
<i>Total</i>	434

tableau IV – antithrombine – dosage fonctionnel : résultats

	Antithrombine - Dosage fonctionnel (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
ENSEMBLE DES RESULTATS	428	32,0	5,6	17,6	427	88,9	5,2	5,9
IL HemosIL Antithrombin	8	28,8	4,8	16,6	9	87,8	5,5	6,3
IL HemosIL Liquid Antithrombin	74	24,4	3,7	15,0	74	87,2	4,3	4,9
ROCHE AT / Antithrombin III	17	35,7	1,4	3,9	18	86,8	3,4	3,9
SIEMENS Berichrom Antithrombine III	8	36,3	3,2	8,7	8	87,0	4,1	4,8
SIEMENS Innovance Antithrombine	15	34,8	3,3	9,4	15	86,4	5,0	5,7
STAGO STA Stachrom AT III	298	33,6	4,2	12,6	297	89,8	5,3	5,9

1-2 Antithrombine - dosage immunologique ou antithrombine antigène

23 laboratoires ont réalisé le dosage de l'antithrombine par une méthode immunologique. Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux V et VI.

tableau V – antithrombine – dosage immunologique : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
DIASYS Antithrombine III	1
HYPHEN BIOMED Liaphen AT	1
SIEMENS N-antisérum anti-AT III humaine	2
SIEMENS Nor-Partigen AT III	3
STAGO Liatest AT III	14
Autre	1
non précisé	1
<i>Total</i>	23

tableau VI – antithrombine – dosage immunologique : résultats en %

	Antithrombine - Dosage immunologique (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
ENSEMBLE DES RESULTATS	19	37,7	2,02	5,4	20	87,1	4,7	5,4
STAGO Liatest AT III	14	37,6	2,03	5,4	14	87,4	3,9	4,4

2 – Protéine C

Le nombre de laboratoires ayant réalisé le dosage de la protéine C est de 169 (dosage fonctionnel ou immunologique) ; 24 laboratoires ont pratiqué les deux types de dosage.

2-1 Protéine C - dosage fonctionnel

169 laboratoires ont réalisé le dosage de la protéine C par une méthode fonctionnelle. Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux VII et VIII.

tableau VII – protéine C – dosage fonctionnel : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
Méthode coagulante	87
CRYOPEP Cryocheck Clot C	1
HYPHEN BIOMED Hemoclot Protein C	6
IL HemosIL Proclot	6
SIEMENS Réactif Protéine C	3
STAGO STA Staclot Protein C	71
Méthode amidolytique	82
HYPHEN BIOMED Biophen Protein C	1
IL HemosIL Protein C	26
SIEMENS Berichrom Protéine C	9
STAGO STA Stachrom Protein C	46
<i>Total</i>	169

tableau VIII – protéine C – dosage fonctionnel : résultats

	Protéine C - Dosage fonctionnel (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
Ensemble des résultats	168	119,2	7,4	6,2	169	103,3	10,1	9,8
Méthode coagulante								
HYPHEN BIOMED Hemoclot Protein C	6	102,7	6,2	6,0	6	90,0	6,4	7,1
IL HemosIL Proclot	4	*			4	*		
STAGO STA Staclot Protein C	71	121,9	8,0	6,5	71	111,5	8,6	7,7
Méthode amidolytique								
IL HemosIL Protein C	26	113,0	3,0	2,7	26	93,4	2,2	2,3
SIEMENS Berichrom Protéine C	9	120,0	5,0	4,2	9	100,7	5,3	5,3
STAGO STA Stachrom Protein C	45	120,6	3,9	3,2	44	99,6	3,2	3,2

* résultats individuels rendus à titre d'information : 14B3 : 111 ; 114 ; 114 ; 117 %
14B4 : 96 ; 96 ; 106 ; 118 %

2-2 Protéine C - dosage immunologique

24 laboratoires ont réalisé le dosage de la protéine C par une méthode immunologique. Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux IX et X.

tableau IX – protéine C – dosage immunologique : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
BIOMERIEUX Vidas Protein C	13
HYPHEN BIOMED Zymutest Protein C	3
STAGO Asserachrom protein C	7
Autre	1
<i>Total</i>	<i>24</i>

tableau X – protéine C – dosage immunologique : résultats

	Protéine C - Dosage immunologique (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
Ensemble des résultats	24	108,0	11,5	10,7	24	93,5	8,71	9,3
BIOMERIEUX Vidas Protein C	13	106,5	11,6	10,9	12	90,2	6,1	6,7
STAGO Asserachrom protein C	7	111,6	10,8	9,7	7	99,0	10,5	10,6

3 – Protéine S

Le nombre de laboratoires ayant réalisé le dosage de la protéine S est de 161 (dosage fonctionnel ou immunologique) ; 42 laboratoires ont pratiqué les deux types de dosage.

3-1 Protéine S - dosage fonctionnel

141 laboratoires ont réalisé le dosage de la protéine S par une méthode fonctionnelle. Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux XI et XII.

tableau XI – protéine S – dosage fonctionnel : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
IL HemosIL Protein S activity	19
SIEMENS Protéine S Ac	4
STAGO STA Staclot protéine S	118
<i>Total</i>	<i>141</i>

tableau XII – protéine S – dosage fonctionnel : résultats

	Protéine S - Dosage fonctionnel (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
Ensemble des résultats	140	127,7	11,0	8,6	137	39,3	4,94	12,6
IL HemosIL Protein S activity	19	110,4	10,2	9,2	19	28,8	5,82	20,2
STAGO STA Staclot protéine S	118	130,2	9,2	7,0	116	40,8	3,23	7,9

3-1 Protéine S libre antigène – dosage immunologique

62 laboratoires ont réalisé le dosage de la protéine S par une méthode immunologique. Les réactifs utilisés et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux XIII et XIV.

tableau XIII – protéine S libre antigène – dosage immunologique : réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs
HYPHEN BIOMED Zymutest Free Protein S	2
IL HemosIL Free Protein S	12
STAGO Asserachrom free protéine S	12
STAGO STA Liatest free protein S	36
<i>Total</i>	62

tableau XIV – protéine S libre antigène – dosage immunologique : résultats

	Protéine S libre antigène - Dosage immunologique (%)							
	14B3				14B4			
	n	mTr	sTr	CVTr	n	mTr	sTr	CVTr
Ensemble des résultats	54	152,0	13,7	9,0	60	38,6	3,1	8,1
IL HemosIL Free Protein S	11	160,3	18,7	11,7	12	41,0	2,4	5,8
STAGO Asserachrom free protéine S	11	137,3	11,4	8,3	11	41,5	2,8	6,7
STAGO STA Liatest free protein S	32	154,2	7,8	5,1	35	36,6	1,8	4,9

4 – Interprétation du cas clinique – échantillon 14B4

5.1 – Rappel du cas clinique et réponses des experts

Le cas clinique figurant sur le formulaire de réponse était le suivant :

Une recherche de facteur biologique de risque de maladie thromboembolique veineuse est réalisée chez une patiente de 25 ans dont le père a un antécédent d'embolie pulmonaire à 40 ans sans facteur déclenchant retrouvé. La patiente reçoit une contraception par desogestrel (Cerazette®). Comment interprétez-vous ses résultats (plasma 14B4) ? (1 ou 2 réponses possibles à choisir dans la liste proposée)

Les trois référents ont répondu « Déficit en protéine S » (réponse attendue).

5.2 – Réponses des participants

Parmi les 436 laboratoires ayant dosé un ou plusieurs facteurs de risque de thrombose, 368 soit 84,4 %, ont donné au moins une réponse au cas clinique à l'aide des réponses proposées sur le formulaire de réponse.

Le cas clinique précisait que la patiente était sous desogestrel, contraceptif uniquement progestatif, ne faisant pas diminuer la protéine S. La réponse attendue était donc « Déficit en protéine S ».

Cependant pour les laboratoires qui n'ont dosé que l'antithrombine, le résultat d'antithrombine de l'échantillon 14B4 étant normal (~90 % pour les dosages fonctionnel et immunologique), la réponse attendue disponible sur le formulaire de réponse était « Résultats normaux sur les paramètres analysés ».

De ce fait, les réponses au cas clinique ont été analysées en tenant compte des paramètres dosés par les laboratoires. Le tableau XV montre les réponses des laboratoires ayant dosé uniquement l'antithrombine : 207 laboratoires ont rendu l'antithrombine mais pas la protéine S (ni la protéine C pour la plupart) et ont rendu une réponse au cas clinique. Quant aux 161 laboratoires ayant dosé antithrombine, protéine C et protéine S, leurs réponses figurent dans le tableau XVI.

tableau XV – Réponses au cas clinique sur l'échantillon 14B4 : laboratoires qui ont dosé l'antithrombine et pas la protéine S

Interprétation 1	Interprétation 2	Effectif	%
Résultats normaux sur les paramètres analysés		194	93,7
Déficit en antithrombine		4	1,9
Diminution de l'antithrombine liée à la contraception		5	2,4
Déficit en antithrombine	Diminution de l'antithrombine liée à la contraception	2	1,0
Diminution de l'antithrombine liée à la contraception	Déficit en antithrombine	1	0,5
Déficit en antithrombine	Résultats normaux sur les paramètres analysés	1	0,5
<i>Total</i>		207	

	Réponse attendue pour les laboratoires ayant dosé uniquement l'antithrombine
--	--

tableau XVI – Réponses au cas clinique sur l'échantillon 14B4 : laboratoires qui ont dosé antithrombine, protéine C et protéine S

Interprétation 1	Interprétation 2	Effectif	%
Déficit en protéine S		91	56,5
Diminution de la protéine S liée à la contraception		28	17,4
Diminution de la protéine S liée à la contraception	Déficit en protéine S	22	13,7
Déficit en protéine S	Diminution de la protéine S liée à la contraception	14	8,7
Déficit en antithrombine	Déficit en protéine S	1	0,6
Diminution de l'antithrombine liée à la contraception	Diminution de la protéine S liée à la contraception	1	0,6
Diminution de la protéine S liée à la contraception	Déficit en protéine C	1	0,6
Diminution de l'antithrombine liée à la contraception		2	1,2
Déficit en antithrombine		1	0,6
<i>Total</i>		161	

	Réponse attendue pour les laboratoires ayant dosé la protéine S
--	---

Les réponses sont très majoritairement cohérentes avec les dosages effectués : 93,7 % des 207 laboratoires qui ont dosé l'antithrombine et pas la protéine S ont donné la réponse « Résultats normaux sur les paramètres analysés ».

Pour les 161 laboratoires ayant dosé les trois paramètres du bilan de thrombose et rendu une réponse au cas clinique, 158 soit 98,1 % ont objectivé le résultat abaissé de protéine S en donnant la réponse « Déficit en protéine S » et/ou « Diminution de la protéine S liée à la contraception », cependant 105 d'entre eux soit 65,2 % ont donné l'interprétation correcte « Déficit en protéine S » comme première interprétation.

Les erreurs relevées dans l'interprétation sont dues vraisemblablement à des réponses portant sur l'échantillon 14B3 (et non 14B4 comme demandé), à des couples de réponses portant l'une sur l'échantillon 14B3 et l'autre sur l'échantillon 14B4, ou à des inversions des résultats de dosage entre 14B3 et 14B4.

Commentaires

La recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thrombo-embolique veineuse a été réalisée par 436 laboratoires. Près des deux tiers (264) d'entre eux ne réalisent que le dosage fonctionnel de l'antithrombine et un peu plus d'un tiers (161) ont pratiqué le dosage de l'ensemble des paramètres (AT, PC et PS) avec au moins une technique. Le dosage de l'antithrombine a longtemps été réalisé seul avant mise en route de la contraception oestroprogestative, ce qui peut expliquer la persistance du dosage isolé de l'antithrombine dans de nombreux laboratoires mais le bilan complet doit maintenant comporter un dosage des inhibiteurs de coagulation (antithrombine, protéines C et S), une recherche en biologie moléculaire du facteur V Leiden et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine. Ce bilan sera complété, en cas d'antécédents personnels de maladie thrombo-embolique veineuse ou de pathologie obstétricale, de la recherche d'antiphospholipides (anticoagulant circulant, anticorps anticardiolipine, anti β 2GP1). L'opération 14HEM2 comportait deux échantillons. L'échantillon 14B3 présentait un résultat d'antithrombine inférieur à la normale et des résultats de protéine S et protéine C normaux. Quant à l'échantillon 14B4, le résultat de protéine S était inférieur à la normale et les résultats d'antithrombine et protéine C étaient normaux.

L'antithrombine a été dosée avec une méthode fonctionnelle (activité cofacteur de l'héparine) par 428 laboratoires soit 98,2 % de ceux qui ont fait le bilan de thrombose. Les résultats sont assez satisfaisants avec pour l'échantillon 14B4 dans les valeurs normales (moyenne générale = 88,9 %) des CV toutes techniques et par réactif compris entre 3,9 et 6,3 % et des moyennes par réactif comprises entre 86,4 et 89,8 %.

L'échantillon 14B3 présentait avec la méthode fonctionnelle un résultat d'antithrombine abaissé (moyenne générale = 32,0 %) et un CV à 17,6 %. Les résultats par réactif se répartissent en 2 groupes : 4 réactifs avec des moyennes proches de 35 % et des CV entre 3,9 et 12,6 % et 2 réactifs IL : HemosIL Liquid Antithrombin et HemosIL Antithrombin (résultats à 24,4 et 28,8 %) avec des CV respectivement de 15 et 16,6 %.

La méthode de dosage fonctionnelle (activité cofacteur de l'héparine) est la seule permettant de voir tous les types de déficit en antithrombine. Le dosage immunologique seul ne détecte pas les déficits qualitatifs (antigène normal, activité diminuée).

Seulement 19 laboratoires ont pratiqué la méthode immunologique avec principalement un réactif. Les résultats sur les deux échantillons sont proches de ceux obtenus avec la méthode fonctionnelle : 14B3 = 37,7 % et 14B4 = 87,1 % et CV 5,4 % dans les deux cas. Conformément à la NABM (1), les résultats ont été presque exclusivement rendus en % (et non plus en g/l).

Ce dosage immunologique fait en deuxième intention dans l'exploration d'une diminution du taux d'antithrombine activité est indispensable au typage du déficit quantitatif (type I) ou qualitatif (type II). En cas de déficit qualitatif, une méthode d'activité progressive et une étude du gène de l'antithrombine seront ensuite nécessaires pour définir les anomalies de liaison au site actif (IIRS) ou au site de liaison à l'héparine (IIHBS), dont les niveaux de risque thromboembolique sont très différents.

La protéine C dosée, soit avec une méthode fonctionnelle (169 laboratoires), soit avec une méthode immunologique (24 laboratoires) montre des résultats normaux, proches de 100 % quel que soit le réactif utilisé. Avec les réactifs des méthodes fonctionnelles, les CV vont de 2,3 à 7,7 %. Avec les 2 réactifs de la méthode immunologique, les CV vont de 6,7 à 10,9 %. La mesure de l'activité fonctionnelle de la protéine C peut être réalisée soit par méthode coagulante soit par méthode amidolytique. Seule la technique en test de coagulation permet de dépister tous les types de déficits en protéine C et plus particulièrement les types qualitatifs IIAC (activité coagulante). Elle a été utilisée par 87 laboratoires alors que la méthode amidolytique a été réalisée dans 82 laboratoires. La méthode immunologique ne doit être réalisée qu'en deuxième intention, uniquement quand l'activité biologique de la protéine C est inférieure aux valeurs de référence.

Concernant **la protéine S**, le dosage a été réalisé le plus souvent en technique d'activité (141 laboratoires), technique permettant de dépister tous les types de déficit en protéine S. Le résultat de l'échantillon 14B3 est supérieur à 100 % avec les 2 réactifs utilisés pour le dosage fonctionnel et les CV sont de 7 et 9,2 %. L'échantillon 14B4 présente un résultat abaissé (moyenne générale = 39,3 %) et des CV de 7,9 % pour Stago STA Staclot protéine S et 20,2 % pour IL HemosIL Protein S activity. Quant au dosage de la protéine S libre antigène (62 laboratoires), l'échantillon 14B3 est supérieur à 100 % (moyenne = 152 %) et l'échantillon 14B4 également abaissé (moyenne = 38,6 %). Les CV des 3 réactifs utilisés vont de 5,1 à 11,7 %.

Par rapport à la précédente opération du CNQ sur ces paramètres, l'effectif des participants en 2014 montre une diminution variable selon le paramètre (tableau XVII).

tableau XVII – effectifs en 2010 et 2014 : antithrombine, protéine C et protéine S

		2010	2014	Diminution (%)
Antithrombine	dosage fonctionnel	580	434	25,2
	dosage immunologique	77	23	70,1
Protéine C	dosage fonctionnel	202	169	16,3
	dosage immunologique	28	24	14,3
Protéine S	dosage fonctionnel	151	141	6,6
	dosage immunologique - protéine S libre Ag	80	62	22,5

Afin de comparer les résultats de 2014 (opération 14HEM2) à ceux de 2010 (opération 10HEM1), la médiane des CV intra-réactifs par paramètre a été déterminée (tableau XVIII). Pour des niveaux d'échantillons comparables, les CV intra-réactifs médians, tous inférieurs à 10 %, sont relativement stables. Ils augmentent légèrement pour l'antithrombine de niveau bas et la protéine S de niveau normal et tendent à s'améliorer pour l'antithrombine de niveau normal et la protéine C.

tableau XVIII – CV intra-réactifs médians : antithrombine, protéine C et protéine S

	CV intra-réactifs médians (%)			
	niveau normal		niveau bas	
	2010	2014	2010	2014
Antithrombine : dosage fonctionnel et immunologique	5,2	4,9	7,8	9,4
Protéine C : dosage fonctionnel et immunologique	6,6	6,3	-	-
Protéine S : dosage fonctionnel et immunologique	7,1	8,3	-	6,7

La version de septembre 2014 de la NABM se référant à la décision de 2013 (1) rappelle qu'une conclusion interprétant les résultats doit figurer sur le compte rendu. La patiente du cas clinique 14B4 recevait une contraception progestative par désogestrel qui ne modifie pas les paramètres d'hémostase et en particulier ne diminue pas le taux de protéine S contrairement aux contraceptions oestro-progestatives (2).

La seule conclusion possible dans l'interprétation des résultats de l'échantillon 14B4 parmi les réponses proposées était « Déficit en protéine S », conclusion donnée comme conclusion unique par 56 % des laboratoires réalisant les 3 dosages (antithrombine, protéine S et protéine C).

Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Lors de l'opération 14HEM2, les résultats des laboratoires ont été évalués à l'aide de limites acceptables qui figurent dans le tableau XIX.

Ces limites acceptables tiennent compte des performances analytiques des systèmes de dosage présents sur le marché et permettent de délimiter, de part et d'autre de la cible (moyenne tronquée obtenue avec le même groupe technique, ici le réactif), un intervalle à l'intérieur duquel un résultat est considéré comme « acceptable ».

tableau XIX – limites acceptables

		Limites acceptables en %	
Echantillon		dosage fonctionnel	dosage immunologique
Antithrombine	14B3 : niveau bas	29	15
	14B4 : niveau normal	13	15
Protéine C	14B3 : niveau normal	11	19
	14B4 : niveau normal	16	19
Protéine S	14B3 : niveau normal	15	21
	14B4 : niveau bas	22	15

Par ailleurs, en août 2014, le GEHT (Groupe d'études sur l'Hémostase et la Thrombose) a publié sur son site des Normes d'acceptabilité en hémostase (3) dans le but « de proposer des limites d'acceptabilité pour la validation continue du processus analytique, selon les critères du suivi de la reproductibilité comme validation de la fidélité, et des biais comme validation de l'inexactitude (justesse), tels que définis par le SH GTA 06 du COFRAC. »

Bibliographie

- 1- Décision du 11 février 2013 de l'union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie. Sous-chapitre 5-02. – Hémostase et coagulation. Publiée le 11 juin 2013.
- 2- Winkler U.H., Howie H., Bühler K. : A randomized controlled double-blind study of the effects on hemostasis of two progestogen-only pills containing 75 µg desogestrel or 30 µg levonorgestrel. *Contraception*, 1998, 57:385-392
- 3- GEHT : Normes d'acceptabilité en hémostase (GEHT 2014). Document téléchargeable sur : <http://site.geht.org>
- 4- Haute Autorité de Santé – Recommandations en santé publique – Dépistage systématique de la thrombophilie avant une primo-prescription de contraception hormonale combinée. Juillet 2014
- 5- G. Pernod et al : Recommandations pour la recherche de facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009, 21, octobre, 5-11
- 6- M. Alhenc-Gelas et al : La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquence pour la pratique en biologie clinique. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009, 21, octobre, 12-39

Frottis sanguin

Un ensemble de 1155 laboratoires a participé à l'analyse des deux frottis 14BF-Fara et 14BG-Gill.

Echantillon 14BF-Fara

Définition de l'échantillon

L'échantillon 14BF-Fara, frottis sanguin coloré au MGG, provenait d'un patient qui présentait un syndrome mononucléosique (figure 1). Les résultats de la formule sanguine sont présentés dans le tableau XX.

Les laboratoires disposaient du cas clinique suivant :

Mme P. âgée de 65 ans est hospitalisée en Maladies Infectieuses pour exploration d'une fièvre autour de 38,8° C avec asthénie, sueurs nocturnes, myalgies, toux sèche, rhinorrhée et diarrhée. Dans ses antécédents on note un cancer du sein opéré un an auparavant traité par thérapie ciblée par voie sous-cutanée. Un bilan biologique a été réalisé en ville et a retrouvé un hémogramme, une hémostase et un ionogramme normaux, une CRP à 9 mg/L, ainsi qu'une cytolysse hépatique prédominant sur les ALAT à 5N.

A l'admission dans le service, les données quantitatives de la NFS sont les suivantes (valeurs de référence entre parenthèses - *valeurs hors bornes) : Leucocytes 6,78 G/L (4,00-10,00), Hématies * 3,95 T/L (4,00-5,20)

Hémoglobine * 11,8 g/dL (12,0-16,0)

Hématocrite 36,3 % (35,0-47,0)

VGM 92 fL (80-100), TCMH 29,9 pg (27,0-33,0)

CCMH 32,5 g/dL (32,0-36,0)

Indice Distribution Hématies 15 % (12-15)

Plaquettes 181 G/L (150-400)

L'analyse des graphes par le technicien note l'existence d'un contingent de cellules de grande taille motivant la réalisation systématique d'un frottis sanguin.

Les biologistes référents ont examiné le frottis 14BF-Fara : Ch. Marzac, Paris – V. Baccini, Marseille – V. Bardet, Paris – E. Ronez, Paris – C. Settegrana, Paris.

tableau XX - résultats attendus - frottis 14BF-Fara

	Résultats des référents (moyenne en %)
Polynucléaires neutrophiles	30
Polynucléaires éosinophiles	1
Polynucléaires basophiles	0
Lymphocytes	-
Monocytes	7
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	-
<i>Lymphocytes + Cellules lymphoïdes hyperbasophiles</i>	62
Myélémie / précurseurs granuleux	0
Blastes	0
Erythroblastes	0

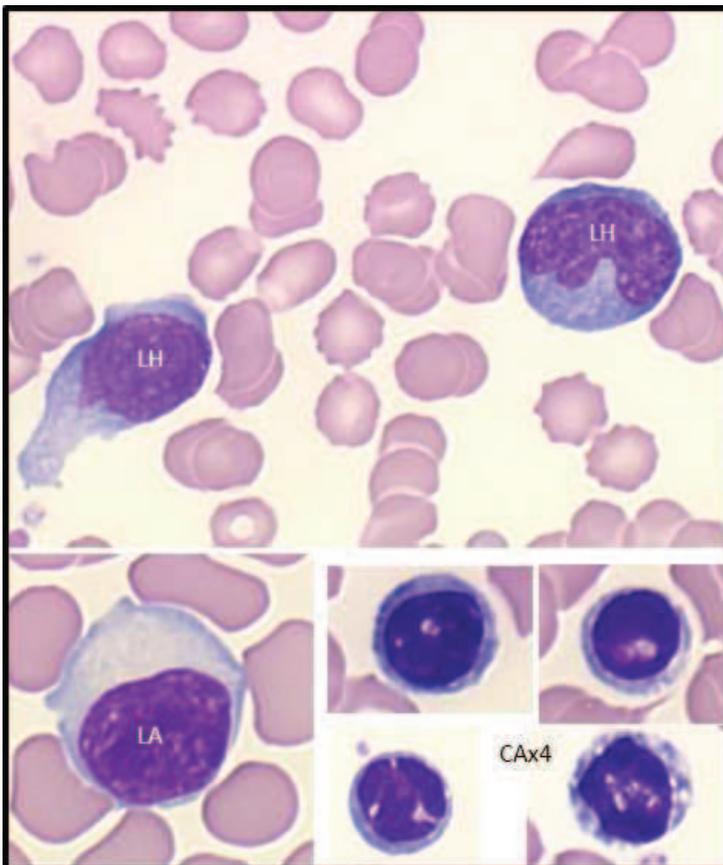
Commentaires attendus : cellules lymphoïdes hyperbasophiles, corps apoptotiques, lymphocytes activés

Réponse attendue : Syndrome mononucléosique

Réponse acceptable : Lymphocytose non spécifique

Remarques : La triade "grandes cellules mononucléées hyperbasophiles, lymphocytes polymorphes d'aspect activé (contours basophiles) et lymphocytes en apoptose à chromatine laquée noire (ici très nombreux, habituellement à rechercher activement - cf CNQ 12HEM2 Frottis 12BF)" était typique d'un syndrome mononucléosique qu'il était important de pouvoir affirmer dans un contexte de cancer en traitement d'entretien avec cytolysse hépatique chronique inexpliquée.

figure 1 – éléments caractéristiques du frottis 14BF-Fara



Tryptique du syndrome mononucléosique :

Cellules hyperbasophiles (LH), lymphocytes activés (LA), corps apoptotiques (CA)

A noter : acanthocytes, témoins de l'atteinte hépatique

Résultats des participants

1 – Analyse des réponses

Le frottis 14BF-Fara a été analysé par 1155 laboratoires. Le formulaire de réponse permettait de rendre la formule sanguine, de donner 1 à 4 commentaires sur l'aspect des 3 lignées cellulaires et de formuler 1 ou 2 hypothèses diagnostiques, à choisir dans des listes pré-établies. Les différents types de réponses sont détaillés dans le tableau XXI.

tableau XXI – types de réponses

Formule	Commentaires	Hypothèses diagnostiques	Nombre de laboratoires
X	X	X	1079
X		X	52
X	X		15
X			8
		X	1
Total			1155

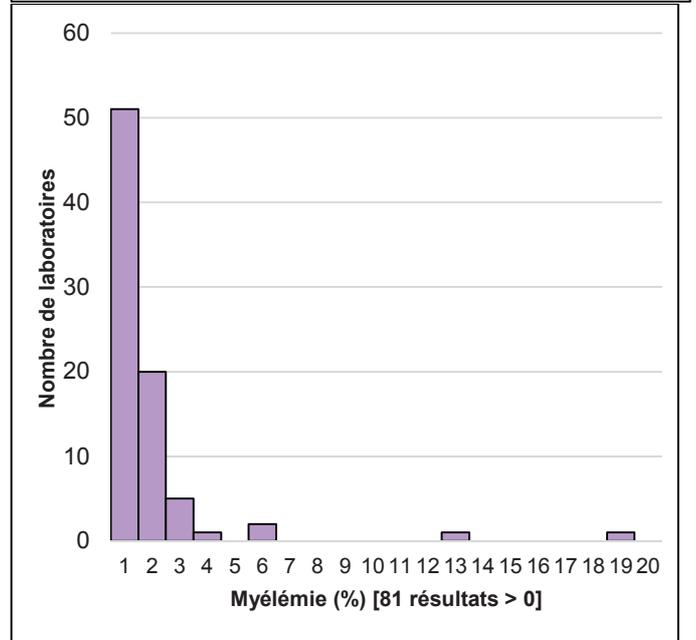
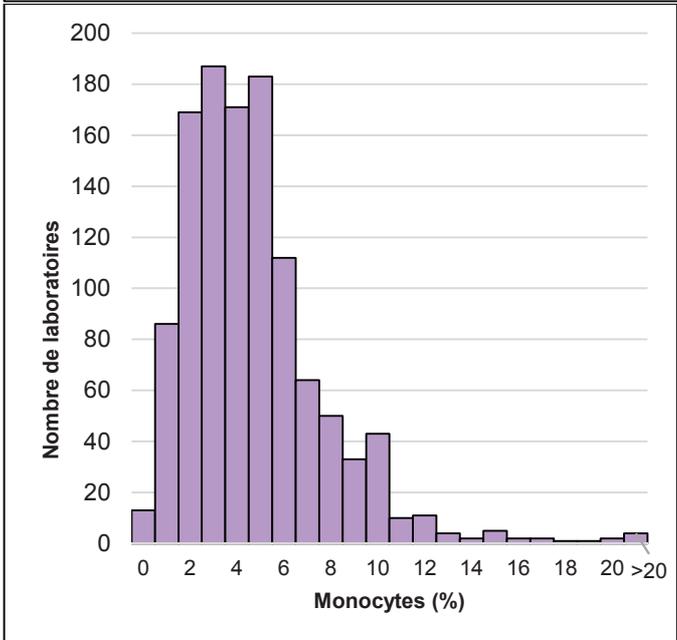
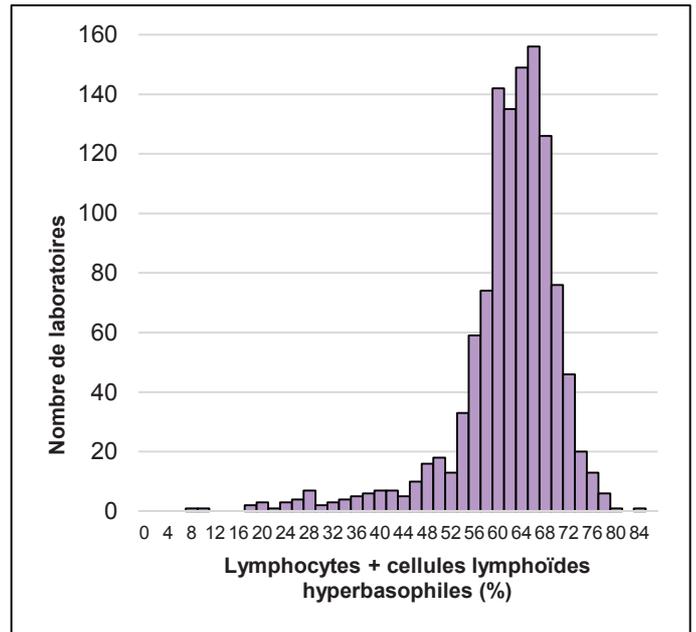
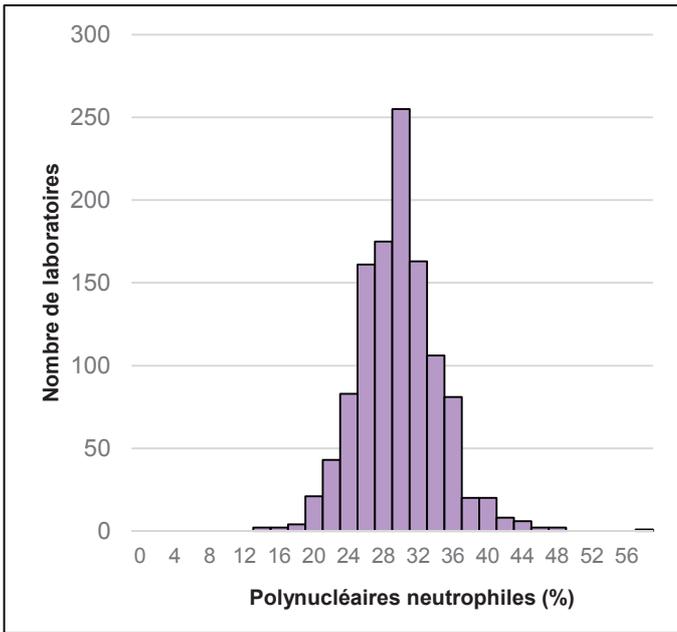
2 – Formule sanguine

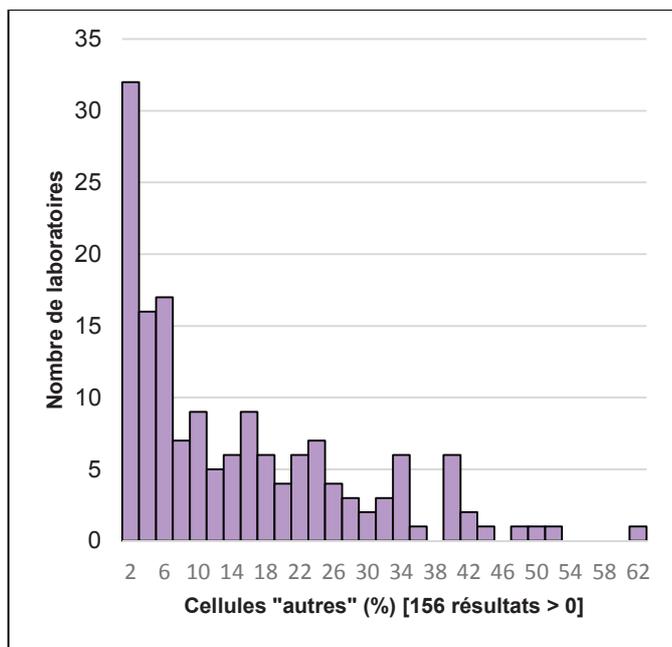
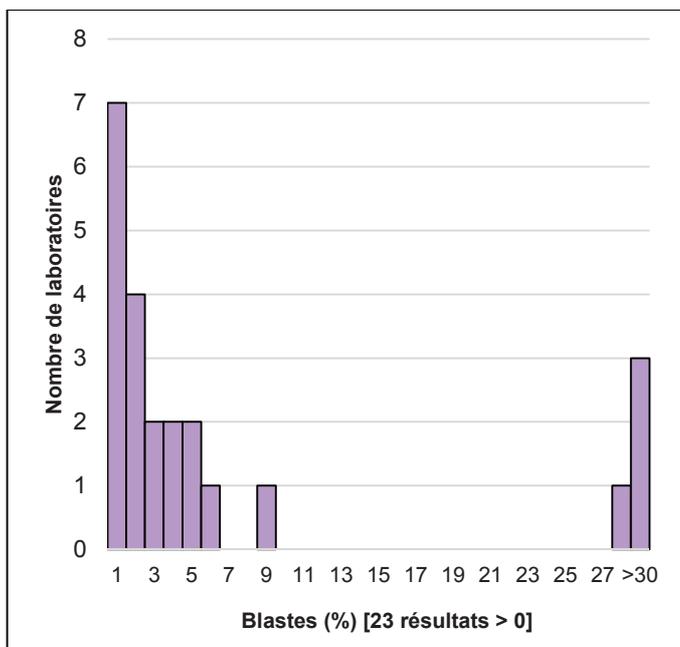
Les résultats des participants figurent dans le tableau XXII. Afin de pouvoir être exploités et comparés aux résultats des référents, les résultats des lymphocytes et des cellules lymphoïdes hyperbasophiles ont été compilés. Les résultats bruts « lymphocytes » et « cellules lymphoïdes hyperbasophiles » figurent à titre d'information entre parenthèses. Les histogrammes de distribution des résultats des participants pour les polynucléaires neutrophiles, lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles, monocytes, myélémie, blastes et cellules autres sont présentés sur la figure 2.

tableau XXII – résultats des participants du frottis 14BF-Fara

	n	Médiane (%)	Intervalle interquartile (%)
Polynucléaires neutrophiles	1129	29	26 - 32
Polynucléaires éosinophiles	1130	2	1 - 3
Polynucléaires basophiles	945	0	0 - 0
Lymphocytes	1127	(52)	(45 – 59)
Monocytes	1119	4	3 - 6
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	1122	(9)	(3 - 15)
Lymphocytes + Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	1102	63	59 - 67
Myélémie / précurseurs granuleux	1053	0	0 - 0
Blastes	1107	0	0 - 0
Autres	980	0	0 - 0
Erythroblastes	427	0	0 - 1

figure 2 : histogramme de distribution des polynucléaires neutrophiles, lymphocytes+cellules lymphoïdes hyperbasophiles, monocytes, myélémie, blastes et cellules autres du frottis **14BF-Fara**





3 – Commentaires descriptifs

Le formulaire de 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 1094 ; leur répartition figure dans le tableau XXIII.

Les tableaux XXIV, XXV et XVI listent les commentaires cités par les laboratoires pour chacune des trois lignées cellulaires.

tableau XXIII - nombre de commentaires descriptifs du frottis 14BF-Fara

Nombre de commentaires	Nombre de laboratoires
1	258
2	374
3	282
4	180

tableau XXIV- commentaires descriptifs du frottis 14BF-Fara: hématies

Commentaires : hématies	Nombre de laboratoires
Anisocytose	137
Hématies en rouleaux	127
Poïkilocytose	80
Dacryocytes (hématies en larme)	33
Erythroblastes circulants	32
Ecchinocytes	14
Schizocytes	10
Hypochromie	9
Anisochromasie	5
Acanthocytes	5
Autres anomalies érythrocytaires	3
Polychromatophilie	2
Corps de Jolly	2
Microcytose	1
Stomatocytes	1
Ponctuations basophiles	1

tableau XXV - commentaires descriptifs du frottis **14BF-Fara**: plaquettes

Commentaires : plaquettes	Nombre de laboratoires
Agrégats plaquettaires	36
Macroplaquettes	22
Autres anomalies plaquettaires	1

tableau XVI - commentaires descriptifs du frottis **14BF-Fara**: leucocytes

Commentaires : leucocytes	Nombre de laboratoires
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	654 (59,8 %)
Lymphocytes activés	531 (48,5 %)
Corps apoptotiques	496 (45,3 %)
Autres cellules lymphoïdes anormales	111
Cellules plasmocytaires normales ou anormales	46
Ombres de Gümprecht	43
Lymphocytes villeux	40
Neutrophiles hypogranuleux (grains peu visibles)	38
Grands lymphocytes granuleux (en excès)	30
Neutrophiles hyposegmentés (anomalie type Pelger)	28
Tricholeucocytes	7
Lymphocytes binucléés	7
Myélémie/précurseurs granuleux (PML/ML/MML)	5
Promonocytes ou monocytes immatures	4
Cellules de Sézary	3
Cellules blastiques	3
Neutrophiles autres anomalies	2
Prolymphocytes (nucléole unique évident)	2
Neutrophiles hypersegmentés(>10%)	1

Commentaire attendu

4 – Hypothèses diagnostiques

Les laboratoires pouvaient émettre 2 hypothèses diagnostiques dans un ordre décroissant de probabilité : 1132 laboratoires ont posé au moins un diagnostic. Le nombre de participants ayant rendu une seule hypothèse est de 684 et deux hypothèses de 448.

Le tableau XXVII présente par ordre de fréquence l'ensemble des hypothèses diagnostiques émises ainsi que les hypothèses considérées comme les plus probables par les laboratoires. Les pourcentages indiqués entre parenthèses sont calculés par rapport au nombre total de laboratoires ayant participé à l'analyse du frottis soit 1155.

tableau XXVII - hypothèses diagnostiques émises sur le frottis **14BF-Fara**

Diagnostic	Ensemble des hypothèses diagnostiques	Hypothèse diagnostique la plus probable
Syndrome mononucléosique	836 (72,4 %)	751 (65,0 %)
Lymphocytose non spécifique	325 (28,1 %)	191 (16,5 %)
Anomalies prédominantes des cellules lymphoïdes	73	29
Phase leucémique de lymphome (autre type)	66	27
Plasmocytose ou lymphoplasmocytose non spécifique	57	26
Lymphome splénique à lymphocytes villeux	43	29
Leucémie/lymphome de l'adulte (ATLL)	31	15
Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	29	11
Leucémie à tricholeucocytes	19	6
Lymphome à cellules du manteau	18	12
Sang normal pour la classe d'âge	14	7
Lymphome à grandes cellules	13	6

Lymphome folliculaire	12	5
Myélome	9	4
Syndrome myélodysplasique	7	1
Anémie (autre type)	5	1
Monocytose	4	1
Leucémie lymphoïde chronique	3	2
Leucémie aiguë autre	2	
Leucémie myéomonocytaire chronique	2	1
Syndrome myéoprolifératif (autre type)	2	1
Splénomégalie myéloïde / myélofibrose primaire	2	1
Syndrome de Sezary	1	1
Leucémie à plasmocytes	1	1
Lymphocytose à lymphocytes binucléés	1	
Leucémie aiguë lymphoblastique	1	
Leucémie aiguë monocytaire	1	1
Anémie hémolytique	1	
Anomalies prédominantes des granuleux	1	1
Myélémie	1	1
Erythroblastose	1	

Diagnostic attendu
Diagnostic acceptable
Diagnostic inapproprié
Diagnostic erroné : toutes les hypothèses diagnostiques différentes des hypothèses attendues, acceptables ou inappropriées sont considérées comme erronées.

5 – Bilan des réponses au frottis

Pour le frottis 14BF-Fara, les résultats des laboratoires participants et des référents sont concordants, avec la présence de cellules hyperbasophiles (ensemble lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles à 62 %), des polynucléaires neutrophiles à 30 % et des monocytes à 4 % et 7 %, respectivement pour les laboratoires et les référents, ainsi que la présence de corps apoptotiques, observés par 45 % des laboratoires.

L'ensemble lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles correspond à une lymphocytose à 4,2 G/L, sans qu'on puisse la qualifier d'hyperlymphocytose. Néanmoins l'hypothèse diagnostique « syndrome mononucléosique » a été rendue par tous les référents et 72 % des laboratoires.

Quarante laboratoires ont rendu une hypothèse diagnostique de « syndrome mononucléosique » sans avoir rendu de cellules lymphoïdes hyperbasophiles ni dans la formule ni dans les commentaires, mais ont cependant rendu le commentaire « lymphocytes activés ».

Quatorze laboratoires ont rendu « Sang normal pour la classe d'âge » : pour 6 d'entre eux, l'autre diagnostic suggéré est « syndrome mononucléosique » mais pour 5, c'est le seul diagnostic suggéré.

Certains biologistes ont signalé un défaut de qualité du frottis : défaut de coloration ou d'étalement, présence de cellules lysées, voire cellules en apoptose « évoquant un frottis réalisé sur du sang vieilli ». Or, la présence des corps apoptotiques était un des éléments participant au diagnostic.

Près de 5 % des laboratoires (60) ont rendu comme seule hypothèse diagnostique un lymphome (une ou deux hypothèses diagnostiques rendues).

L'hypothèse diagnostique attendue « syndrome mononucléosique » a été rendue par 72,4 % des laboratoires. En intégrant la réponse acceptable « lymphocytose non spécifique », on peut considérer qu'un ensemble de 84,8 % de laboratoires a donné une réponse satisfaisante quant au diagnostic.

A titre de comparaison, un frottis de syndrome mononucléosique avait été envoyé en 2012 et comportait 68 % de lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles, des corps apoptotiques et des grands lymphocytes granuleux. Sur les 1552 laboratoires participants, 76,4 % avaient rendu le diagnostic de syndrome mononucléosique en 2012 *versus* 72,4 % en 2014. En intégrant la réponse « lymphocytose non spécifique », 87,3 % avaient donné en 2012 une réponse satisfaisante *versus* 84,8 % en 2014.

6 – Score

Les résultats des frottis sanguins ont été évalués sur la base d'un score prenant en compte pour chaque laboratoire le pourcentage de lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles, de blastes et de myélémie, les commentaires et les hypothèses diagnostiques.

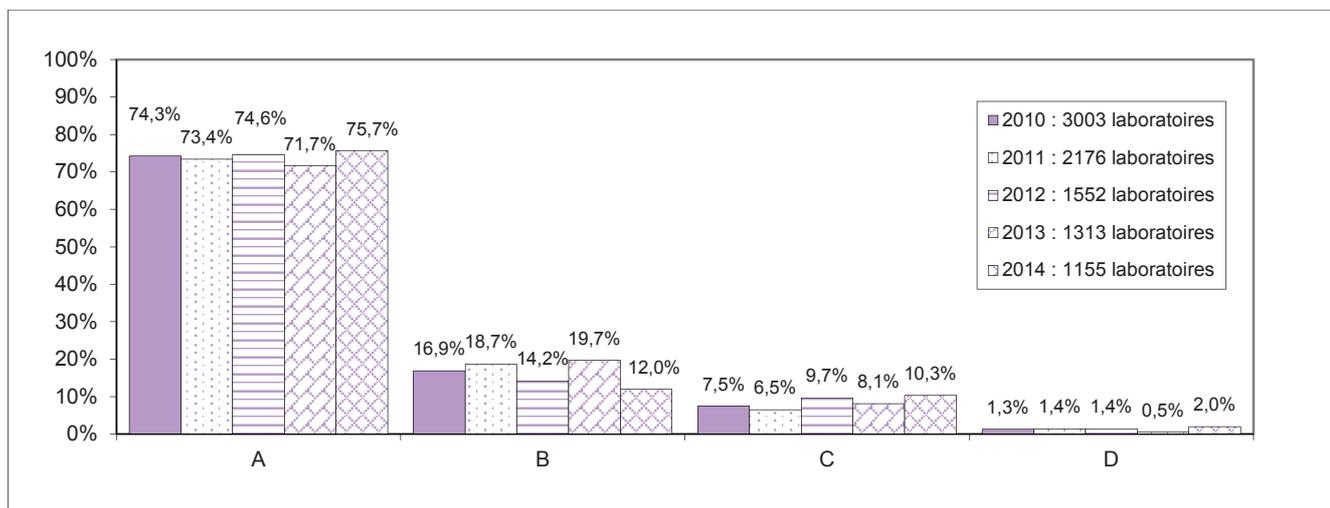
Les critères étaient un compte de lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles $\geq 47\%$, de blastes $\leq 1\%$, de myélémie $< 3\%$. Les commentaires pris en compte dans le score étaient : cellules lymphoïdes hyperbasophiles, corps apoptotiques et lymphocytes activés. Enfin, était retenu le meilleur des deux diagnostics rendus : Syndrome mononucléosique (coté 5), Lymphocytose non spécifique (coté 4) ; les diagnostics inappropriés : Anomalies prédominantes des cellules lymphoïdes et Anémie (autre type) étaient cotés 1, alors que les autres diagnostics, erronés, étaient cotés -1.

L'application de ce score a permis d'évaluer les réponses des laboratoires en A (Bonne réponse), B (Réponse acceptable), C (Réponse à contrôler) et D (Réponse erronée). Une évaluation A ou B a été obtenue par 87,7 % des laboratoires. Les 23 laboratoires ayant obtenu D ont dénombré moins de 45 % de lymphocytes + cellules lymphoïdes hyperbasophiles, n'ont signalé ni cellules lymphoïdes hyperbasophiles ni corps apoptotiques ni lymphocytes activés et ont rendu des diagnostics erronés.

La figure 3 montre que, parallèlement à une diminution régulière du nombre de laboratoires entre 2010 et 2014, la répartition des scores reste relativement stable.

Sur le frottis de syndrome mononucléosique de 2012, le pourcentage de A+B était de 88,8 %, légèrement supérieur à celui de 2014 (87,7 %) et le pourcentage de A, qui était de 74,6 % en 2012, atteint 75,7 % en 2014, sans progression notable.

figure 3 : répartition des scores - années 2010 à 2014



Commentaires

Ce syndrome mononucléosique était particulier du fait de sa survenue chez une patiente immunodéprimée en raison d'un cancer du sein traité. L'existence d'une asthénie intense avec cytolyse hépatique modérée depuis plus de 3 mois avait motivé la réalisation des sérologies virales à *Herpesviridae* qui étaient revenues totalement négatives (absence d'IgG et d'IgM). C'est dans ce contexte qu'un examen du frottis sanguin fut demandé par l'infectiologue. La morphologie était très évocatrice avec notamment une proportion très importante de corps apoptotiques (qui n'avaient rien d'artéfactuel). L'hyperlymphocytose, très modeste chez cette patiente, pourrait être en rapport avec une lymphopénie à l'état basal. Finalement la PCR CMV était très positive, permettant de porter le diagnostic d'infection à CMV, sans pouvoir trancher entre réactivation ou primo-infection dans ce contexte d'immunodépression.

Globalement les résultats des laboratoires sont bons si l'on ajoute les 17 % de réponses « acceptables » (lymphocytose non spécifique) aux 65 % de réponses « attendues » (syndrome mononucléosique) comme hypothèses diagnostiques les plus probables. Cependant, ce résultat n'est pas meilleur, voire un peu moins bon, que celui du cas analogue de syndrome mononucléosique proposé en 2012 (respectivement 15 et 69 %), et ce, malgré la réduction du nombre de laboratoires participants.

Rappelons que selon le recrutement et les critères de validation internes environ 5 à 25 % des Numérations-Formules Sanguines nécessitent la réalisation d'un frottis sanguin. La reconnaissance des pathologies courantes et la détection d'éléments anormaux constitue donc la base de toute habilitation en cytologie hématologique. A ce titre, l'équipement

progressif des laboratoires en scanners de lames notamment pourrait constituer un apport considérable en termes de formation initiale et de formation continue des techniciens et des biologistes au sein de chaque structure.

Bibliographie

- 1- Cahier de Formation de Biologie Médicale, BIOFORMA, Hématologie - Cas cliniques illustrés, n°10 sept 1998, p 27-31.
- 2- Annales du Contrôle National de Qualité 12HEM2
http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/e11534af3ec59b0233d8ed87101e127b.pdf

Echantillon 14BG-Gill

Définition de l'échantillon

L'échantillon 14BG-Gill, frottis sanguin coloré au MGG, provenait d'un patient qui présentait une leucémie à plasmocytes (figure 4). Les résultats de la formule sanguine sont présentés dans le tableau XXVIII.

Les laboratoires disposaient du cas clinique suivant :

Mr K, 65 ans est hospitalisé en urgence pour un état septique avec dyspnée et altération de l'état général. Il est rapidement pris en charge en réanimation médicale. Dans ses antécédents on note un tabagisme ancien, des infections à répétition et une hypogammaglobulinémie autour de 5 g/L.

Numération globulaire (valeurs de référence entre parenthèses - *valeurs hors bornes) :

Leucocytes * 88,94 G/L (4,00-10,00)

Hématies * 2,50 T/L (4,00-6,20),

Hémoglobine * 7,6 g/dL (12,0-18,0)

Hématocrite * 22,3 % (40,0-55,0), VGM 89 fL (80-100), TCMH 30,4 pg (27,0-33,0), CCMH 34,1 g/dL (32,0-36,0)

Indice Distribution Hématies * 16 % (12-15)

Plaquettes * 45 G/L (150-400)

Volume plaquettaire moyen 10,4 fL (9,0-13,0)

Plaquettes vérifiées sur lame sans amas - Prélèvement non coagulé. L'automate ne rend pas de formule, l'examen des graphes leucocytaires montre un nuage pathologique englobant les populations lymphocytaires, monocytaires et au-delà.

Les autres résultats du bilan biologique sont : TP 81% (>70 %), TCA ratio 0,85 (<1,20), Fibrinogène 2,0 g/L (2-4)

Bilirubine totale * 21 µmol/l (0-17)

Bilirubine conjuguée 5 µmol/l (0-6)

LDH * 3 377 UI/l (0-470), GGT * 46 UI/l (0-45)

PAL 71 UI/l (0-115), Haptoglobine * 0,03 g/l (0,34-2,00).

Les biologistes référents ont examiné le frottis 14BG-Gill : Ch. Marzac, Paris – V. Baccini, Marseille – V. Bardet, Paris – E. Ronez, Paris – C. Settegrana, Paris.

tableau XXVIII - résultats attendus

	Résultats des référents (moyenne en %)
Polynucléaires neutrophiles	14
Polynucléaires éosinophiles	0
Polynucléaires basophiles	0
Lymphocytes	6
Monocytes	3
Myélémie / précurseurs granuleux	0
Blastes	0
Autre catégorie : plasmocytes	77
Erythroblastes	1

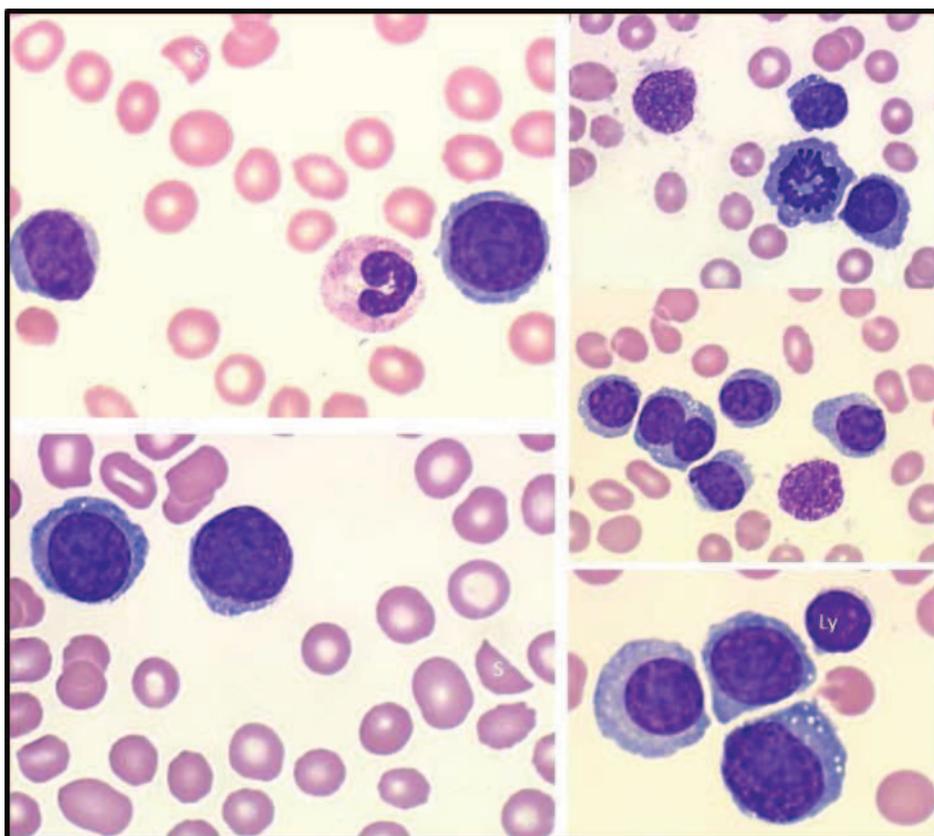
Commentaires attendus : Cellules plasmocytaires normales ou anormales, autres cellules lymphoïdes anormales, schizocytes, hématies en rouleaux, polylimphocytes (nucléole unique évident) [éventuellement]

Réponse attendue : Leucémie à plasmocytes, myélome

Réponse acceptable : Phase leucémique de lymphome, hémopathie lymphoïde chronique (autre type), leucémie polylimphocytaire, lymphome à grandes cellules.

Remarques : La nature lymphoïde des cellules était évidente et la différenciation plasmocytaire (excentration du noyau) très fréquente. Le caractère prolifératif (leucocytose, présence de mitoses), la taille des éléments et leur chromatine immature avec nucléole proéminent excluaient formellement une lymphocytose réactionnelle. Le diagnostic de leucémie à plasmocytes, hypothèse morphologique la plus probable, ou éventuellement d'un autre lymphome avec gammopathie monoclonale dont témoignait la présence de rouleaux d'hématies, reposait avant tout sur la cytométrie en flux et la clinique. Les noyaux nus, souvent présents dans les grandes hyperleucocytoses, ne doivent pas être dénommés « ombres de Gümprécht » en dehors du contexte de leucémie lymphoïde chronique (LLC).

figure 4 – éléments caractéristiques du frottis 14BG-Gill



Cellules lymphoïdes de grande taille avec volumineux nucléole et différenciation plasmocytaire, binucléarité, mitose. Lymphocyte (Ly), schizocytes (S)

Résultats des participants

1 – Analyse des réponses

Le frottis 14BG-Gill a été analysé par 1154 laboratoires. Le bordereau-réponse permettait de rendre la formule sanguine, de donner 1 à 4 commentaires sur l'aspect des 3 lignées cellulaires et de formuler 1 ou 2 hypothèses diagnostiques, à choisir dans des listes pré-établies. Les différents types de réponses sont détaillés dans le tableau XXIX.

tableau XXIX – types de réponses

Formule	Commentaires	Hypothèses diagnostiques	Nombre de laboratoires
X	X	X	1080
X		X	64
X			4
X	X		3
	X	X	3
		Total	1154

2 – Formule sanguine

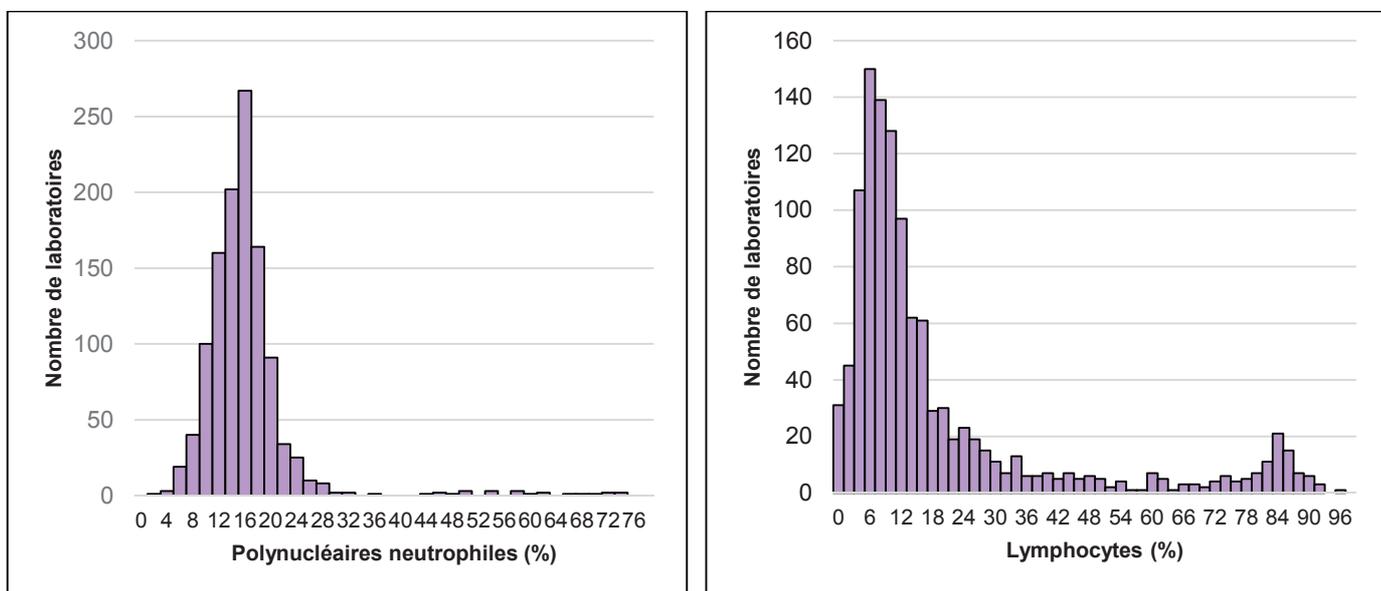
Les résultats des participants figurent dans le tableau XXX. Les histogrammes de distribution des résultats des participants pour les polynucléaires neutrophiles, lymphocytes, cellules lymphoïdes hyperbasophiles, blastes et cellules autres sont présentés sur la figure 5.

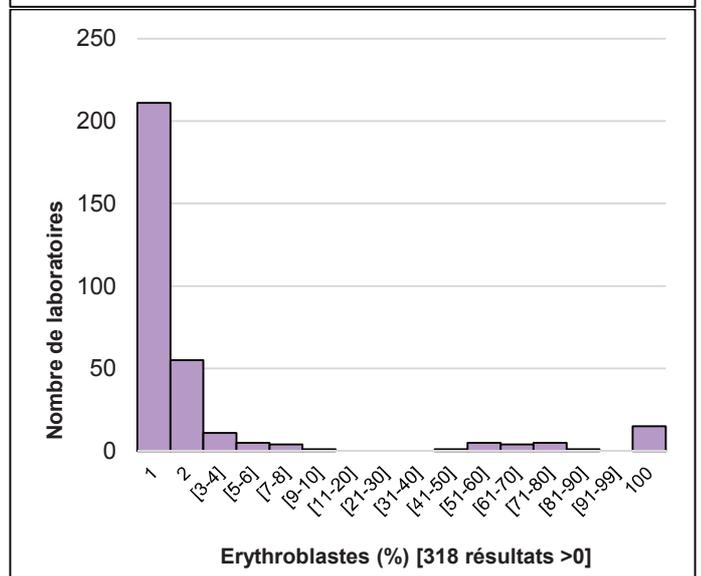
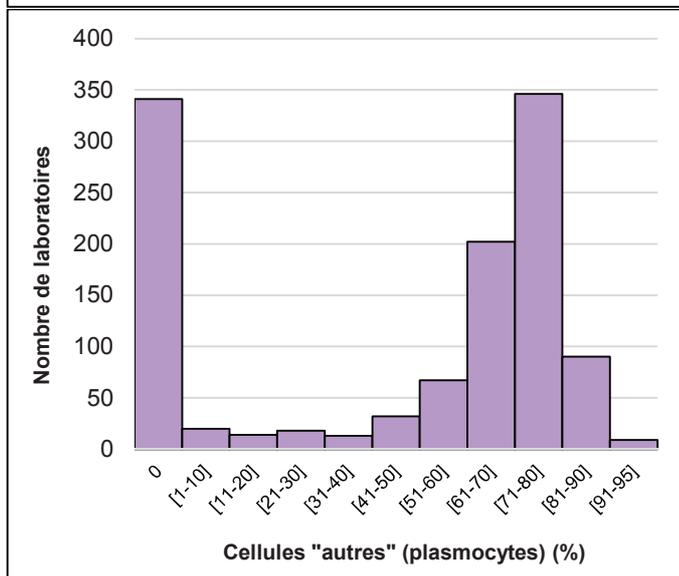
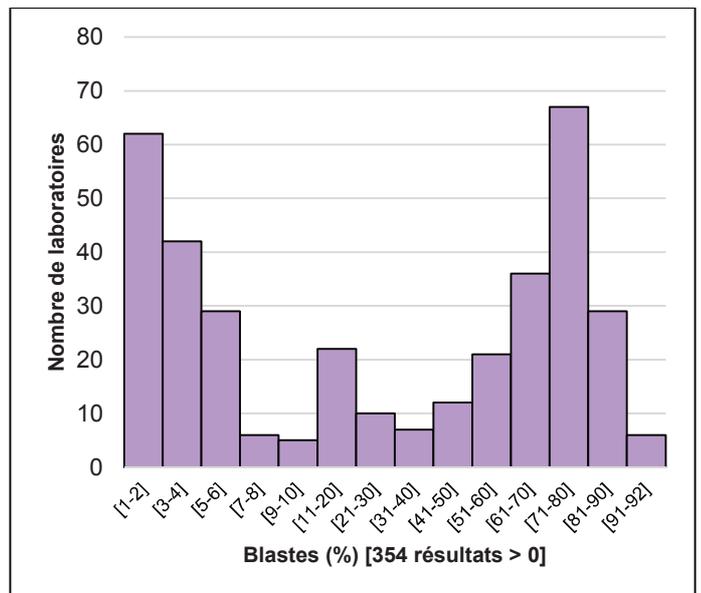
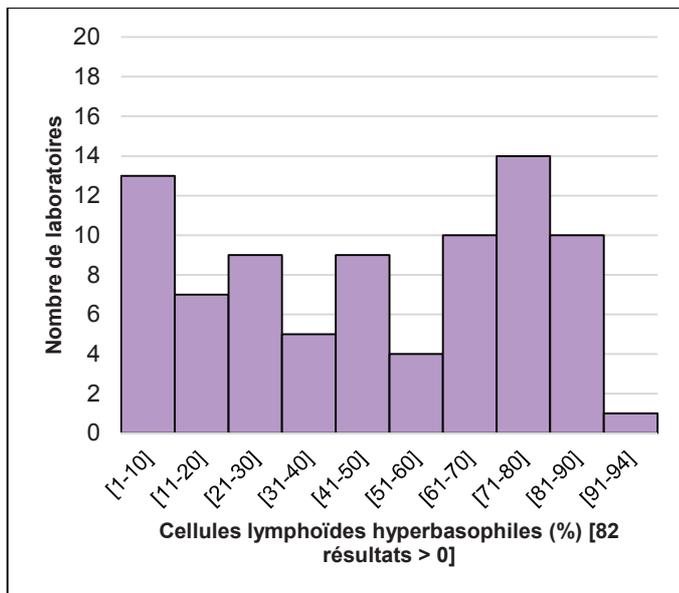
Les cellules caractéristiques et majoritaires de ce frottis étaient des plasmocytes, à rendre dans la catégorie « autres » (médiane des laboratoires : 66 %). Cependant un certain nombre de laboratoires ne les ont pas reconnues comme telles et les ont comptées en lymphocytes, cellules lymphoïdes hyperbasophiles ou blastes, voire en polynucléaires neutrophiles et érythroblastes.

tableau XXX – résultats des participants 14BG-Gill

	n	Médiane (%)	Intervalle interquartile (%)
Polynucléaires neutrophiles	1090	15	12 - 17
Polynucléaires éosinophiles	947	0	0 - 0
Polynucléaires basophiles	1081	0	0 - 0
Lymphocytes	1004	10	6 - 19
Monocytes	1097	2	1 - 3
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	1032	0	0 - 0
Myélémie / précurseurs granuleux	1093	0	0 - 1
Blastes	917	0	0 - 3
Autres (plasmocytes)	1111	66	0 - 75
Erythroblastes	512	1	0 - 1

figure 5 : histogramme de distribution des polynucléaires neutrophiles, lymphocytes, cellules lymphoïdes hyperbasophiles, blastes, cellules autres (plasmocytes) et érythroblastes du frottis 14BG-Gill





3 – Commentaires descriptifs

Le formulaire de 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 1086 ; leur répartition figure dans le tableau XXXI.

Les tableaux XXXII, XXXIII et XXXIV listent les commentaires cités par les laboratoires pour chacune des trois lignées cellulaires.

tableau XXXI - nombre de commentaires descriptifs du frottis 14BG-Gill

Nombre de commentaires	Nombre de laboratoires
1	299
2	309
3	245
4	233

tableau XXXII - commentaires descriptifs du frottis 14BG-Gill : hématies

Commentaires : hématies	Nombre de laboratoires
Anisocytose	258 (23,8 %)
Hématies en rouleaux	208 (19,2 %)
Schizocytes	157 (14,5 %)
Poïkilocytose	134
Erythroblastes circulants	95
Hypochromie	64
Polychromatophilie	13
Anisochromasie	9
Corps de Jolly	9
Hématies cibles	8
Microcytose	4
Sphérocytes	4
Acanthocytes	4
Ponctuations basophiles	4
Dacryocytes (hématies en larme)	3
Ecchinocytes	2
Macrocytose	1
Double population	1
Autres anomalies érythrocytaires	1

Commentaire attendu

tableau XXXIII - commentaires descriptifs du frottis 14BG-Gill : plaquettes

Commentaires : plaquettes	Nombre de laboratoires
Macroplaquettes	20
Autres anomalies plaquettaires	9
Mégacaryocyte circulant	6
Agrégats plaquettaires	1

tableau XXXIV - commentaires descriptifs du frottis 14BG-Gill : leucocytes

Commentaires : leucocytes	Nombre de laboratoires
Cellules plasmocytaires normales ou anormales	649 (59,8 %)
Autres cellules lymphoïdes anormales	222 (20,4 %)
Cellules blastiques	206 (19,0 %)
Ombres de Gümprécht	204 (18,9 %)
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	79
Myélémie/précurseurs granuleux (PML/ML/MML)	59
Prolymphocytes (nucléole unique évident)	52
Corps apoptotiques	23
Lymphocytes binucléés	17
Neutrophiles hyposegmentés (anomalie type Pelger)	10
Neutrophiles hypogranuleux (grains peu visibles)	10
Lymphocytes activés	10
Lymphocytes villeux	7
Neutrophiles hypergranuleux (granulations "toxiques")	5
Tricholeucocytes	3
Corps d'Auer	3
Neutrophiles hypersegmentés(>10%)	2
Neutrophiles autres anomalies	2
Promonocytes ou monocytes immatures	2

Grands lymphocytes granuleux (en excès)	2
Neutrophiles vacuolisés	1
Cellules de Sézary	1

Commentaire attendu

4 – Hypothèses diagnostiques

Les laboratoires pouvaient émettre 2 hypothèses diagnostiques dans un ordre décroissant de probabilité : 1147 laboratoires ont posé au moins un diagnostic. Le nombre de participants ayant rendu une seule hypothèse est de 484 et deux hypothèses de 663.

Le tableau XXXV présente par ordre de fréquence l'ensemble des hypothèses diagnostiques émises ainsi que les hypothèses considérées comme les plus probables par les laboratoires. Les pourcentages indiqués entre parenthèses sont calculés par rapport au nombre total de laboratoires ayant participé à l'analyse du frottis soit 1154.

tableau XXXV - hypothèses diagnostiques émises sur le frottis 14BG-Gill

Diagnostic	Ensemble des hypothèses diagnostiques	Hypothèse diagnostique la plus probable
Leucémie à plasmocytes	698 (60,5 %)	634 (54,9 %)
Phase leucémique de lymphome (autre type)	195	82
Leucémie aiguë autre	139	51
Leucémie lymphoïde chronique	122	94
Leucémie aiguë lymphoblastique	101	66
Myélome	86 (7,5 %)	18 (1,6 %)
Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	75	34
Leucémie/lymphome de l'adulte (ATLL)	63	26
Anémie hémolytique	62	13
Leucémie polylmphocytaire	57	30
Leucémie aiguë myéloïde	48	38
Plasmocytose ou lymphoplasmocytose non spécifique	45	11
Lymphome à grandes cellules	24	9
Lymphome à cellules du manteau	20	12
Anomalies prédominantes des cellules lymphoïdes	18	8
Erythroblastose	14	5
Leucémie aiguë monocyttaire	8	5
Lymphome splénique à lymphocytes villeux	4	1
Leucémie à tricholeucocytes	4	2
Leucémie aiguë promyélocytaire	4	1
Anémie (autre type)	4	
Syndrome myélodysplasique	3	2
Anémie mégaloblastique	3	
Microangiopathie thrombotique	3	
Leucémie myélomonocytaire chronique	2	1
Leucémie myéloïde chronique (phase accélérée)	2	2
Lymphocytose non spécifique	1	1
Pathologie constitutionnelle (autre type)	1	1
Lymphome folliculaire	1	
Syndrome de Sézary	1	
Syndrome myéloprolifératif (autre type)	1	
Myélémie	1	
Diagnostic attendu		
Diagnostic acceptable		
Diagnostic inapproprié		
Diagnostic erroné : toutes les hypothèses diagnostiques différentes des hypothèses attendues, acceptables ou inappropriées sont considérées comme erronées.		

5 – Bilan des réponses au frottis

Le frottis 14BG-Gill était caractérisé par la présence de plasmocytes en grand nombre (77 % pour les référents) dans un contexte hyperleucocytaire avec présence de schizocytes.

Le formulaire de réponse permettait de rendre le pourcentage de plasmocytes dans l'item « autre catégorie » en indiquant dans l'un des quatre commentaires la présence de « cellules plasmocytaires normales ou anormales ».

Il apparaît que 649 laboratoires (49,8 %) ont cité parmi les commentaires « cellules plasmocytaires normales ou anormales » et 698 (60,5 %) ont rendu l'hypothèse diagnostique Leucémie à plasmocytes.

Cependant 55 laboratoires ont rendu ce diagnostic sans avoir compté de cellules dans la catégorie « autres » ; ils ont rendu les plasmocytes dans les différentes catégories suivantes : blastes, cellules lymphoïdes hyperbasophiles, voire lymphocytes.

Des schizocytes n'ont été rendus que par 14,5 % des laboratoires, cependant 23,8 % des laboratoires ont rendu « anisocytose » comme commentaire morphologique de la lignée rouge le plus fréquent.

L'une ou l'autre des deux hypothèses diagnostiques attendues « Leucémie à plasmocytes » ou « Myélome » a été rendue par 711 laboratoires, soit 61,6 %.

En prenant en compte également les différentes réponses acceptables « Phase leucémique de lymphome », « Hémopathie lymphoïde chronique (autre type) », « Leucémie proliférative », « Lymphome à grandes cellules », on peut considérer qu'un ensemble de 899 laboratoires, soit 77,9 % a donné une réponse satisfaisante quant au diagnostic.

6 – Score

Pour les raisons indiquées ci-dessous, le frottis 14BG-Gill n'a pas été évalué. Le message suivant figure sur les compte-rendus individuels des laboratoires.

« En raison de la variabilité des réponses obtenues par les participants sur la catégorie cellulaire « Autres » dans laquelle étaient attendus les résultats des plasmocytes, ce cas s'est montré peu adapté à un scoring qui prend en compte non seulement les hypothèses diagnostiques et les commentaires morphologiques mais également la formule leucocytaire.

De plus, quoique le diagnostic ait été rendu par un grand nombre de laboratoires, il s'agit d'une hémopathie rare. Le frottis 14BG a donc été considéré comme envoyé à titre pédagogique et n'a pas fait l'objet d'une évaluation.

Les réponses attendues (formule des référents, commentaires, hypothèses diagnostiques) figurent sur le compte-rendu individuel, les laboratoires peuvent ainsi apprécier la concordance de leurs réponses aux réponses attendues. »

Commentaires

La leucémie à plasmocytes, définie par des plasmocytes sanguins anormaux supérieurs à 2 G/L et/ou 20 % des leucocytes, constitue une entité rare et particulière de myélome, de pronostic défavorable. Ce patient sans antécédent connu présentait une forme clinique aiguë avec asthénie intense d'installation récente, splénomégalie et lésions osseuses. Malgré le traitement entrepris en milieu de réanimation, l'évolution fut rapidement défavorable dans un tableau de défaillance multiviscérale. La plasmocytose a pu atteindre 300 G/L.

Conclusion

L'opération 14HEM2 comportait deux échantillons pour recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thromboembolique veineuse (antithrombine, protéine C et protéine S), ainsi que deux frottis sanguins.

Le dosage de l'antithrombine par une méthode fonctionnelle est le dosage majoritairement effectué, par plus de 400 laboratoires, le dosage de la protéine C et de la protéine S par une méthode fonctionnelle étant effectué par environ 150 laboratoires. Les dosages par des méthodes immunologiques, à réaliser en deuxième intention, sont pratiqués par un plus faible nombre de laboratoires. Globalement, deux tiers de ces laboratoires ne pratiquent que le dosage de l'antithrombine et un tiers pratique le dosage des trois paramètres.

Les résultats de l'antithrombine sont satisfaisants avec des CV inférieurs à 10 % pour la plupart des réactifs, par une méthode fonctionnelle ou immunologique, pour un niveau normal (~88 %) ou abaissé (~35 %).

Les résultats de la protéine C, sur les deux échantillons de niveau normal proche de 100 %, sont également satisfaisants avec des CV tous inférieurs à 11 %, par une méthode fonctionnelle ou immunologique.

De même, les résultats de la protéine S sont satisfaisants, avec des CV inférieurs à 10 % pour la plupart des réactifs, par une méthode fonctionnelle ou immunologique, pour un niveau normal supérieur à 100 % ou abaissé proche de 40 %.

Au cas clinique qui concernait l'échantillon 14B4, 94 % des laboratoires ayant dosé uniquement l'antithrombine ont répondu comme attendu « résultats normaux sur les paramètres analysés ». Les laboratoires ayant dosé les trois paramètres (antithrombine, protéine C et protéine S) sont 65 % à avoir rendu, comme première interprétation, l'interprétation exacte « déficit en protéine S » et 31 % « Diminution de la protéine S liée à la contraception ». En définitive, 98 % ont bien conclu en faveur d'un résultat abaissé de protéine S.

Le frottis 14BF-Fara, provenant d'un patient présentant un syndrome mononucléosique, comportait plus de 60 % de lymphocytes et de cellules lymphoïdes hyperbasophiles, ainsi que des corps apoptotiques et des lymphocytes activés. On relève pour certains laboratoires des défauts d'identification et de comptage cellulaire et par conséquent de diagnostic. Cependant l'hypothèse diagnostique attendue « syndrome mononucléosique » a été rendue par 72 % des laboratoires. Les résultats sont relativement satisfaisants (85 %) si l'on intègre également la réponse acceptable « lymphocytose non spécifique ». Un frottis similaire envoyé en 2012 avait montré un ensemble de 87 % de réponses attendues et acceptables.

Sur le frottis 14BG-Gill, caractérisé par la présence d'environ 70 % de plasmocytes, 61 % des laboratoires ont rendu le diagnostic de leucémie à plasmocytes ou de myélome. Correspondant à une hémopathie rare, le frottis 14BG a été considéré comme pédagogique.