

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin (splénomégalie myéloïde)
Dosage du fibrinogène
RAI

Hématologie

06HEM1

Juin 2006

Edition : février 2007

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

Expédition : 21 juin 2006
Clôture : 10 juillet 2006
Edition des compte-rendus individuels : 12 octobre 2006
Paramètres contrôlés : **06AF : Frottis sanguin**
06A3 : Fibrinogène
06A9 : RAI

Nombre de laboratoires concernés* : 4242
Nombre de laboratoires participants** : 4049

* 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

L'opération 06HEM1 comportait un à trois échantillons selon l'activité déclarée par le laboratoire. Sur le frottis 06AF, provenant d'un patient atteint de splénomégalie myéloïde ou myélofibrose, 84 % des 3642 participants ont donné la réponse attendue. Le taux de bonnes réponses est en amélioration notable par rapport à celui de 2000 (45 %) pour un frottis de même diagnostic. Pour le dosage du fibrinogène réalisé par 3292 laboratoires sur l'échantillon 06A3, la moyenne générale est de 2,85 g/l avec un coefficient de variation de 10 %, toutes méthodes confondues. Les résultats de la RAI sur l'échantillon 06A9 n'ont pu être exploités. Cependant, pour la première fois, le nombre et le type d'automates utilisés dans l'étape de dépistage de la RAI ont été répertoriés.

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 le fibrinogène, seuls les résultats pour lesquels l'effectif est supérieur à 10 participants figurent dans le tableau. Pour les résultats de la formule sanguine, seuls les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes présentent une répartition gaussienne des valeurs donc pour tous les autres éléments, seule la médiane a été calculée.

Echantillon 06AF Frottis sanguin

Définition de l'échantillon

L'échantillon 06AF, frottis sanguin coloré au MGG, provenait d'un patient présentant une splénomégalie myéloïde (figure 1). Les résultats de la formule sanguine sont présentés dans le tableau I.
Les laboratoires disposaient du cas clinique suivant :

Mme H. G., 54 ans, consulte pour une sensation de gêne au niveau de l'hypochondre gauche. A l'interrogatoire, la patiente présente une dyspnée d'effort modérée. L'examen clinique objective une splénomégalie évaluée à 5 cm sous le rebord costal, sans autre anomalie.

Une ancienne numération était normale mais avec des plaquettes à 410 G/l.

La numération globulaire actuelle est la suivante :

Hématies : $3,51 \cdot 10^{12}/l$, Hémoglobine : 8,8 g/dl, Hématocrite : 28,3 %, VGM : 80,6 fl, TCMH : 25,1 pg, CCMH : 31,1 %, RDW : 21,1, Leucocytes : 7,63 G/l, Plaquettes : 69 G/l, VMP : 10,9 fl

tableau I - résultats attendus

	Valeurs cibles (%)
Polynucléaires neutrophiles	72
Polynucléaires éosinophiles	1
Polynucléaires basophiles	2
Lymphocytes	20
Monocytes	1
Myélémie / précurseurs granuleux	4
Erythroblastes	2

Commentaires des experts : Dacryocytes, macroplaquettes

Réponse attendue : Suspicion de splénomégalie myéloïde et/ou myélofibrose

figure 1 – critères diagnostiques du frottis 06AF

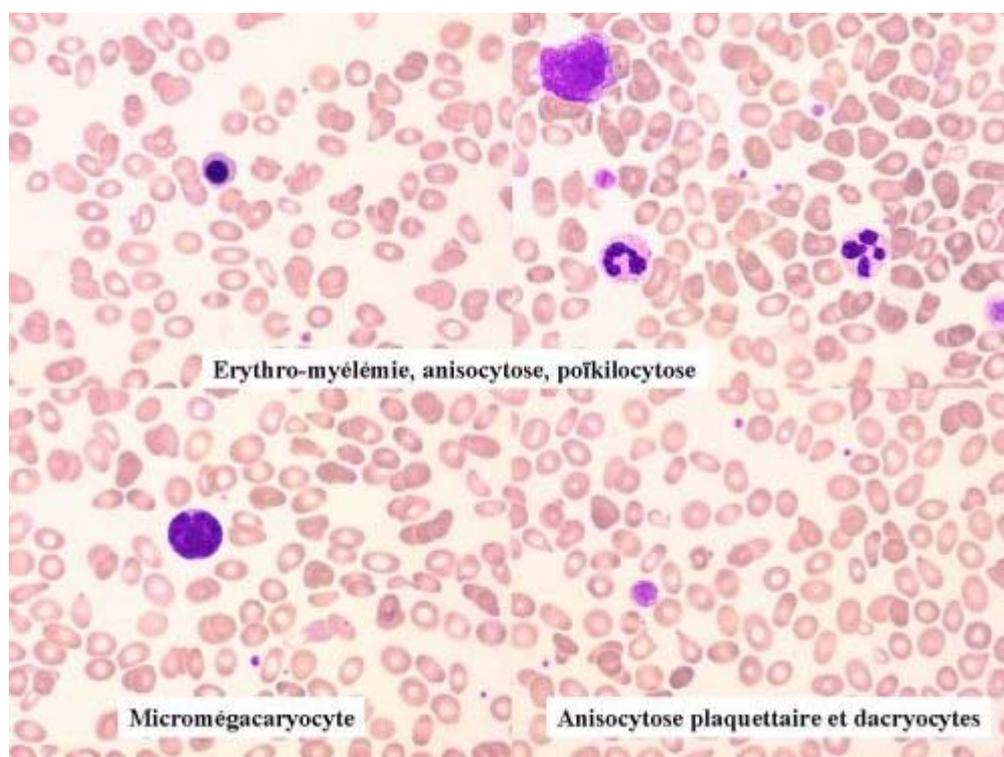
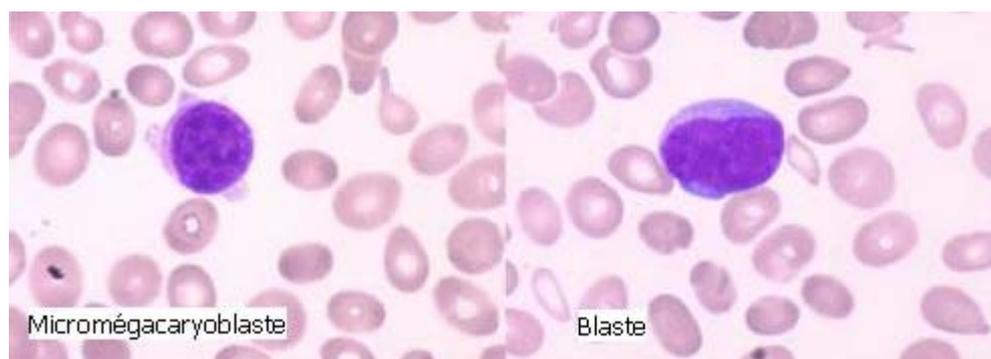


figure 2 – autres éléments cellulaires du frottis 06AF



Résultats des participants

1 – Analyse des réponses

Le frottis 06AF a été analysé par 3642 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 ou 2 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	3503
X	X		92
X			26
X		X	21
		Total	3642

2 – Formule sanguine

Les résultats des participants sont présentés sur le tableau III.

tableau III - formule 06AF

	n	mTr (%)	sTr (%)	CVTr (%)	médiane (%)
Polynucléaires neutrophiles	3642	71,8	4,5	6,27	72
Polynucléaires éosinophiles	3642				1
Polynucléaires basophiles	3642				1
Lymphocytes	3642	17,5	3,9	22,29	17
Monocytes	3642				2
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	3642				0
Myélémie	3642				5
Blastes	3642				0
Autre catégorie non prévue	3642				0
Erythroblastes	3433				2

La répartition des types cellulaires de la formule : myélémie, blastes, autre catégorie et érythroblastes est présentée dans les tableaux IV à VII.

tableau IV - myélémie

Myélémie %	Nombre de laboratoires	Myélémie %	Nombre de laboratoires
0	154	[7 – 9]	875
[1 – 3]	669	[10 – 20]	391
[4 – 6]	1542	[21 – 37]	11

3488 laboratoires soit 95,8% ont dénombré des cellules myéloïdes (promyélocytes, myélocytes, métamyélocytes).

tableau V - blastes

Nombre de blastes %	Nombre de laboratoires	Nombre de blastes %	Nombre de laboratoires
0	2377	[3 – 4]	68
[1 – 2]	1183	[5 – 20]	14

1265 laboratoires soit 34,7 % ont dénombré des blastes.

tableau VI - autre catégorie cellulaire

Nombre de « autre » %	Nombre de laboratoires	Nombre de « autre » %	Nombre de laboratoires
0	3527	[3 – 4]	17
[1 – 2]	86	[5 – 15]	12

115 laboratoires ont dénombré des cellules « autres ». Parmi eux, 41 ont cité dans les commentaires un ou plusieurs codes correspondant à : cellules plasmocytaires, lymphocytes villeux, tricholeucocytes, autres cellules lymphoïdes anormales, cellules lymphoïdes encochées ou à noyau irrégulier, promonocytes ou monocytes immatures. 20 laboratoires ont signalé des mégacaryocytes circulants.

tableau VII - érythroblastes

Nombre d'érythroblastes %	Nombre de laboratoires	Nombre d'érythroblastes %	Nombre de laboratoires
0	60	[5 – 10]	334
[1 – 2]	1802	[11 – 20]	11
[3 – 4]	1226		

3373 laboratoires soit 92,6 % ont rendu un pourcentage d'érythroblastes compris entre 1 et 20.

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 3595 ; leur répartition figure dans le tableau VIII.

Les tableaux IX, X et XI listent les commentaires cités par les laboratoires pour chacune des trois lignées cellulaires.

tableau VIII - nombre de commentaires descriptifs du frottis 06AF

Nombre de commentaires	Nombre de laboratoires
1	85
2	276
3	647
4	2587

tableau IX - commentaires descriptifs du frottis 06AF : hématies

Commentaires : hématies	Nombre de laboratoires
Dacryocytes	2601
Poikilocytose	2104
Anisocytose	2019
Erythroblastes circulants	634
Ponctuations basophiles	576
Hypochromie	439
Schizocytes	388
Polychromatophilie	223
Anisochromasie	140
Elliptocytose	108
Microcytose	78
Ovalocytose	76
Corps de Jolly	58
Anneaux de Cabot	57
Hématies cibles	54
Parasite intraérythrocytaire	28
Hématies en rouleaux	17
Sphérocytose	13
Hématies falciformes	13
Acanthocytes	12
Stomatocytose	9
Ecchinocytes	9
Autres anomalies érythrocytaires	9
Double population	8
Corps de Heinz	6
Granules de Pappenheimer	5
Macrocytose	3

 Commentaire attendu

 Commentaire inapproprié

tableau X - commentaires descriptifs du frottis 06AF : plaquettes

Commentaires : plaquettes	Nombre de laboratoires
Macroplaquettes	1317
Mégacaryocyte circulant	196
Autres anomalies plaquettaires	54
Agrégats plaquettaires	6

 Commentaire attendu

tableau XI - commentaires descriptifs du frottis 06AF : leucocytes

Commentaires : leucocytes	Nombre de laboratoires
Myélémie/précurseurs granuleux (PML/ML/MML)	923
Neutrophiles hypersegmentés	256
Cellules blastiques	114
Neutrophiles hyposegmentés (anomalie type Pelger)	100
Neutrophiles hypergranuleux (granulations "toxiques")	64
Neutrophiles hypogranuleux	51
Cellules lymphoïdes hyperbasophiles	23
Tricholeucocytes	21
Neutrophiles vacuolisés	14
Cellules plasmocytaires normales ou anormales	14

Cellules lymphoïdes encochées ou à noyau irrégulier	14
Grands lymphocytes granuleux	12
Lymphocytes villeux	11
Autres cellules lymphoïdes anormales	11
Ombres de Gümprécht	10
Neutrophiles autres anomalies	10
Anomalies des basophiles	5
Anomalies des éosinophiles	4
Promonocytes ou monocytes immatures	2
Prolymphocytes (nucléole unique évident)	1
Neutrophiles corps de Döhle	1
Lymphocytes binucléés	1

 Commentaire inapproprié

4 – Hypothèses diagnostiques

Les laboratoires pouvaient émettre 2 hypothèses diagnostiques dans un ordre décroissant de probabilité : 3524 laboratoires ont posé au moins un diagnostic. Le nombre de participants ayant rendu une seule hypothèse est de 1386 et deux hypothèses de 2138.

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

Le tableau XIII présente par ordre de fréquence les hypothèses considérées comme étant les plus probables par les laboratoires.

tableau XII - hypothèses diagnostiques émises sur le frottis 06AF

Diagnostic	Ensemble des hypothèses diagnostiques	Hypothèse diagnostique la plus probable
Suspicion de splénomégalie myéloïde	2920	2681
Myélofibrose	799	212
Suspicion de syndrome myéloprolifératif (autre type)	502	49
Suspicion de syndrome myélodysplasique (autre type)	331	82
Suspicion d'anémie réfractaire	178	88
Leucémie myéloïde chronique	151	41
Anémie hémolytique	134	74
Anémie microcytaire hypochrome	100	55
Anémie (autre type)	94	46
Suspicion de métastases médullaires	72	15
Myélémie	71	26
Suspicion de leucémie aiguë myéloïde	53	27
Leucémie à tricholeucocytes	35	18
Suspicion d'anomalie de l'hémoglobine	32	16
Paludisme	29	26
Lymphome splénique à lymphocytes villeux	19	6
Pathologie myéloïde non spécifique (autre type)	19	5
Suspicion d'anémie mégalo-blastique	16	7
Autre parasitose que paludisme	11	4
Erythroblastose	10	2
Suspicion de leucémie aiguë autre	8	5
Suspicion de leucémie myélo-monocytaire chronique	8	1
Thrombocythémie ou thrombocytose	8	2
Anémie macrocytaire	8	6
Anomalies prédominantes des plaquettes	7	3
Hémopathie lymphoïde chronique (autre type)	5	1
Leucémie lymphoïde chronique	4	1
Phase leucémique de lymphome (autre type)	4	3
Suspicion de leucémie aiguë promyélocytaire	4	3
Pathologie constitutionnelle (autre type)	4	2
Sang normal pour la classe d'âge	3	3
Suspicion de leucémie/lymphome de l'adulte (ATLL)	3	1
Plasmocytose ou lymphoplasmocytose non spécifique	3	3

Anomalies prédominantes des granuleux	3	0
Suspicion de lymphome à grandes cellules	2	1
Syndrome mononucléosique	2	2
Suspicion de leucémie aiguë lymphoblastique	2	1
Eosinophilie	2	2
Hémopathie à grands lymphocytes à grains (LGL)	1	1
Suspicion de lymphome folliculaire	1	1
Suspicion de lymphome à cellules du manteau	1	0
Polyglobulie	1	0
Anomalies prédominantes des cellules lymphoïdes	1	1
Polynucléose	1	1

 Réponse attendue

5 – Bilan des réponses au frottis

Sur l'ensemble des 3642 laboratoires ayant donné une réponse au frottis, 3069 ont rendu l'une ou l'autre réponse attendue « suspicion de splénomégalie myéloïde » ou « myélofibrose » comme 1^{ère} ou 2^{ème} hypothèse soit 84,3 % des participants. Parmi eux, 2893 laboratoires soit 79,4 % ont cité ces réponses comme hypothèse la plus probable.

Le commentaire le plus fréquemment cité est la présence de dacryocytes (2601 laboratoires), élément en faveur du diagnostic attendu. Cependant 631 laboratoires ont rendu le diagnostic attendu sans avoir noté la présence de dacryocytes. Inversement, 163 laboratoires ont signalé la présence de dacryocytes sans conclure à une splénomégalie myéloïde ou à une myélofibrose. On constate que le deuxième commentaire le plus fréquemment rendu, macroplaquettes, cité par 1317 laboratoires, est également le plus largement cité par les experts, après les dacryocytes.

Par ailleurs, 37 laboratoires ont rendu un diagnostic de paludisme et/ou d'un autre parasite. Néanmoins, 10 d'entre eux ont également rendu la réponse attendue.

Certains laboratoires ont peut être renoncé à évoquer une splénomégalie en l'absence d'hyperleucocytose (commentaire manuscrit relevé sur quelques bordereaux-réponses).

Trois laboratoires ont rendu pour seule hypothèse diagnostique « frottis normal », en cohérence avec un résultat de formule normal et une absence de commentaire. Un courrier a été adressé à ces laboratoires afin qu'ils expliquent leur erreur. Il leur a également été proposé l'envoi d'une nouvelle lame.

6 – Comparaison des réponses pour les frottis 06AF (année 2006) et 00DF (année 2000)

Lors de l'opération 00HEM4 réalisée en 2000, le frottis 00DF présentait un cas similaire de myélofibrose ; 45,4 % des laboratoires avaient rendu « suspicion de splénomégalie myéloïde » ou « myélofibrose ». Il a paru intéressant de comparer les résultats des laboratoires à 6 ans d'intervalle.

Le nombre de participants au frottis a diminué de 7,3 % avec 3927 laboratoires en 2000 et 3642 en 2006. La comparaison des réponses des laboratoires a été faite sur les hypothèses diagnostiques : 2888 laboratoires ont rendu au moins une hypothèse diagnostique en 2000 (1 à 3 réponses possibles) et en 2006 (1 à 2 réponses possibles). En effet, 509 laboratoires avaient rendu au moins une hypothèse diagnostique en 2000 et n'en ont pas rendu en 2006. Par ailleurs, 163 n'avaient pas rendu d'hypothèse diagnostique en 2000 et en ont rendu en 2006.

Les réponses attendues en 2000 et 2006 étaient « myélofibrose » ou « splénomégalie myéloïde chronique ». Le tableau XIII montre les résultats sur les 2888 laboratoires communs à 2000 et 2006.

tableau XIII - résultats des 2888 laboratoires communs à 2000 et 2006

Résultats	Effectif	%
(1) Aucune réponse attendue ni en 2000 ni en 2006	239	8,3
(2) Réponse attendue en 2000 et 2006	1273	44,1
(3) Aucune réponse attendue en 2000 et réponse attendue en 2006	1278	44,2
(4) Réponse attendue en 2000 et aucune réponse attendue en 2006	98	3,4

52,4 % (items 1 et 2) des laboratoires sont restés stables dans leurs conclusions, parmi lesquels 8,3 % persistent à ne pas reconnaître le diagnostic attendu. Par ailleurs, on constate une amélioration notable avec 44,2 % des laboratoires qui ont signalé la réponse attendue en 2006 alors qu'ils ne l'avaient pas fait en 2000.

Commentaires

Le diagnostic cytologique de myélofibrose est relativement simple, associant des déformations érythrocytaires témoignant de la fibrose médullaire (dacryocytes, ovalocytes) et le passage de cellules immatures dans le sang lié à l'hématopoïèse extra-médullaire (splénique). Néanmoins, il est difficile d'affirmer d'emblée le caractère primitif de la myélofibrose sans les arguments cliniques (splénomégalie) et sans examen histologique pour éliminer un envahissement médullaire. Ici cependant certains éléments nous orientaient vers un syndrome myéloprolifératif : notion d'hyperplaquetteuse ancienne, anisocytose plaquettaire, présence de mégacaryocytes circulants, signes modérés de dysgranulopoïèse (polynucléaires neutrophiles hypogranuleux). Parmi les nombreuses hypothèses émises, celles qui concernaient les syndromes myéloprolifératifs autres que la splénomégalie myéloïde, voire des syndromes myélodysplasiques, ne pouvaient être retenues compte tenu de l'ensemble des données cliniques et biologiques. Il faut donc se féliciter de l'excellent taux de bonnes réponses. La progression enregistrée en l'espace de 6 ans constitue un autre point remarquable.

Par contre, certaines mauvaises habitudes persistent : une fois de plus, la presque totalité des diagnostics hématologiques proposés sur la table de codage est représentée. A titre d'exemple, concernant la poïkilocytose : la présence de quelques ovalocytes, elliptocytes ou stomatocytes ne doit jamais aboutir aux hypothèses diagnostiques homonymes. De même la présence de lymphocytes « atypiques » en parcourant un frottis sanguin est tout à fait banale et ne doit pas égarer. C'est sur l'ensemble du frottis et non sur quelques éléments particuliers que l'on peut proposer un diagnostic.

Le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs (SMP) a été profondément modifié par la récente découverte, française (1), de la mutation acquise V617F de Jak2 qui permet maintenant le diagnostic positif de la plupart des polyglobulies primitives, thrombocytémies essentielles et myélofibroses, sur une simple prise de sang. Jak2 est une protéine à activité tyrosine kinase impliquée dans la transduction du message de nombreuses cytokines, notamment de l'érythropoïétine. La protéine Jak2 mutée V617F est spontanément active et n'est plus régulée, si bien qu'un message de prolifération et de survie est envoyé jusqu'au noyau des précurseurs hématopoïétiques. Il en résulte le plus souvent une polyglobulie et une thrombocytose lentement progressives souvent accompagnées d'hyperleucocytose. Avec le temps et au cours de certaines mitoses, cette mutation acquise est susceptible de devenir bi-allélique (ou homozygote). Le tableau clinique alors observé est celui de polyglobulie de Vaquez ou de myélofibrose secondaire à une thrombocytémie essentielle ou à une polyglobulie de Vaquez.

Si l'on ajoute les autres activations anormales de protéines tyrosines kinases, le réarrangement BCR/ABL caractérisant la leucémie myéloïde chronique (LMC) et les anomalies des récepteurs alpha et bêta du PDGF (platelet derived growth factor) associées aux hyperéosinophilies, les SMP sans anomalie moléculaire sont maintenant devenus minoritaires. Dans le cas de notre patient, la mutation était présente et permettait d'affirmer le caractère « primitif » c'est-à-dire hématologique de cette myélofibrose. Devant un frottis sanguin de myélofibrose, ou devant une polyglobulie ou une thrombocytose inexplicables, il faut congeler de l'ADN ou de l'ARN. On perçoit ici l'apport de la biologie moléculaire. Cependant le rôle du cytologiste n'en devient pas négligeable pour autant. Bien au contraire, il est le mieux placé pour conseiller et orienter de façon rationnelle le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs.

Conclusion

Les syndromes myéloprolifératifs sont des hémopathies fréquentes, rencontrées à tout âge, dues à une activation anormale de l'une des 96 protéines à activité tyrosine kinase de l'organisme humain. Le diagnostic classique qui repose sur un faisceau d'arguments positifs et négatifs (examens isotopiques, culture de progéniteurs hématopoïétiques, cytogénétique, etc...) impliquant des explorations multiples et coûteuses pourrait probablement être simplifié dans la plupart des cas pour le médecin comme pour le patient à qui l'on éviterait une ponction médullaire. Les complications des « maladies Jak2 » sont responsables d'une morbidité importante sous forme de thromboses veineuses splanchniques, de syndromes hémorragiques ou de transformation en leucémie aiguë probablement induite par les traitements cytoréducteurs. Le succès de l'imatinib mesylate (Glivec®) dans le traitement de la LMC et de certaines leucémies aiguës a ouvert la voie aux traitements inhibiteurs de tyrosines kinases. Sans nul doute, un inhibiteur de la protéine Jak2 mutée sera bientôt disponible en clinique. Il appartient donc au biologiste comme au médecin généraliste de diagnostiquer précocément ces pathologies avec tous les moyens nécessaires afin d'en optimiser la prise en charge.

Bibliographie

(1) James C, Ugo V, Le Couedic JP., Nature, 2005, 434, 1144-1148. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera.

Echantillon 06A3

Dosage du fibrinogène

Définition de l'échantillon

L'échantillon 06A3 est un plasma lyophilisé d'origine humaine.

Les résultats de l'expert M-H. HORELLOU (Hôtel-Dieu, Paris) sont représentés dans le tableau XIV.

tableau XIV - résultats de l'expert

	Fibrinogène (g/l) 06A3
Dosage 1	2,98
Dosage 2	2,76
Dosage 3	2,82
<i>Moyenne</i>	2,85

Résultats des participants

Le nombre de participants est de 3292. Il était de 3621 en 2003 (opération 03HEM1), soit une diminution de 9%.

1 – Matériels et méthodes

Les laboratoires ont utilisé 22 réactifs commerciaux différents : les tests Stago Fibriprest et Fibriprest automate représentent 60% des réactifs employés (tableau XV). Concernant les méthodes de dosage, les méthodes mesurant le taux de fibrinogène fonctionnel sont les plus utilisées. La méthode de Clauss (mesure du temps de coagulation du plasma dilué en présence d'un excès de thrombine) est employée par 80,1% des participants. Vient ensuite, avec 19% des participants la méthode dérivée du TP utilisée sur les automates détectant la formation du caillot par méthode optique (la cinétique du signal lumineux à la phase terminale du temps de Quick est fonction du taux de fibrinogène circulant). Seuls 0,9% des laboratoires emploient une méthode non fonctionnelle (méthode immunologique ou méthode de précipitation).

La quasi totalité des laboratoires effectuent leur dosage sur automate (tableau XVI). Seuls 1,2% des participants utilisent encore l'agitation manuelle ou le bain électromagnétique.

tableau XV - réactifs utilisés pour le dosage du fibrinogène

Méthode / Réactif	Nombre d'utilisateurs
Méthode de Clauss	2608 (80,1%)
BIOMERIEUX - Fibrinomat Hémolab	1
BIOMERIEUX Fibrquick/ MDA Fibrquick	150
DADE BEHRING Fibrinogène / Réactif de Thrombine	100
DADE BEHRING Multifibren U	67
ELITECH / TECHNIQUE BIOLOGIQUE Auto Fibr	13
ELITECH / TECHNIQUE BIOLOGIQUE Fibrinotest	6
IL HemosIL Fibrinogène C	286
IL QFA Thrombine (bovine)	3
STAGO Fibriprest	296
STAGO Fibriprest Automate/STA Fibrinogène/ STA FIB	1671
TRINITY BIOTECH / SIGMA - Dosage du Fibrinogène réf 880	1
TRINITY BIOTECH Amax Fibrinogène réf 886-A	14
Fibrinogène dérivé du TP	620 (soit 19%)
IL HemosIL RecombiPlasTin	1
IL HemosIL TP FIB	31
IL HemosIL TP FIB HS	512
IL HemosIL TP FIB HS plus	76
Méthode immunologique	22 (0,7%)
DADE BEHRING N Antiserum Fg Neph. BN	3
DADE BEHRING Turbiquant Fibrinogène	10
ELITECH / DAKO Ac anti-Fib (néphéломétrie/turbidimétrie)	4
FUMOUCHE- Turbox Fibrinogène	5
Turbidimétrie après précipitation au sulfate d'ammonium	7 (0,2%)
BIODIRECT - Fibrinogène	1
BIODIRECT - Fibrinogène LDM (réf: RC 1232-01)	6

35 laboratoires n'ont pas précisé le réactif utilisé pour ce dosage

tableau XVI - automates et techniques utilisés pour le dosage du fibrinogène

Automates et techniques	Nombre d'utilisateurs
BIOMERIEUX Coag a mate MTX / MDA	14
BIOMERIEUX Coag a mate RA4, XC, XC+	2
BIOMERIEUX Hémolab	1
BIOMERIEUX Option	253
BIOMERIEUX Thrombolyzer	82
DADE BEHRING BCT / BCS	58
DADE BEHRING CA	107
DADE BEHRING Fibrintimer	16
DADE BEHRING Turbitimer	3
Epsilon	14
FUMOUCHE Turbox /Turbox plus	4
HYCEL AC	5
IL ACL / FUTURA	688
Maxmat PL	8
ORTHO Electra / MLA	1
SIGMA / AMELUNG AMAX	13
SIGMA / AMELUNG KC	63
STAGO ST4, ST888, START	495
STAGO STA, STAR, STACompact, Satellite	1365
Agitation manuelle	18
Bain électromagnétique	19
Coagulomètre	14

49 laboratoires n'ont pas précisé la technique utilisée pour ce dosage

2 – Résultats

Les participants devaient reporter pour cette opération leur résultat en g/l avec une seule décimale après la virgule. La répartition des résultats est représentée sur la figure 3. La moyenne des résultats est de 2,85 g/l soit au centre des valeurs physiologiques qui vont de 2 à 4 g/l et correspond à la moyenne de l'expert. On observe des valeurs allant de 0,9 g/l à 6,4 g/l avec 36 résultats (1%) en dehors des bornes physiologiques. L'analyse statistique complète (n, mTr, sTr, CVTr) par groupe technique est représentée dans le tableau XVII.

figure 3 – histogramme des résultats du fibrinogène

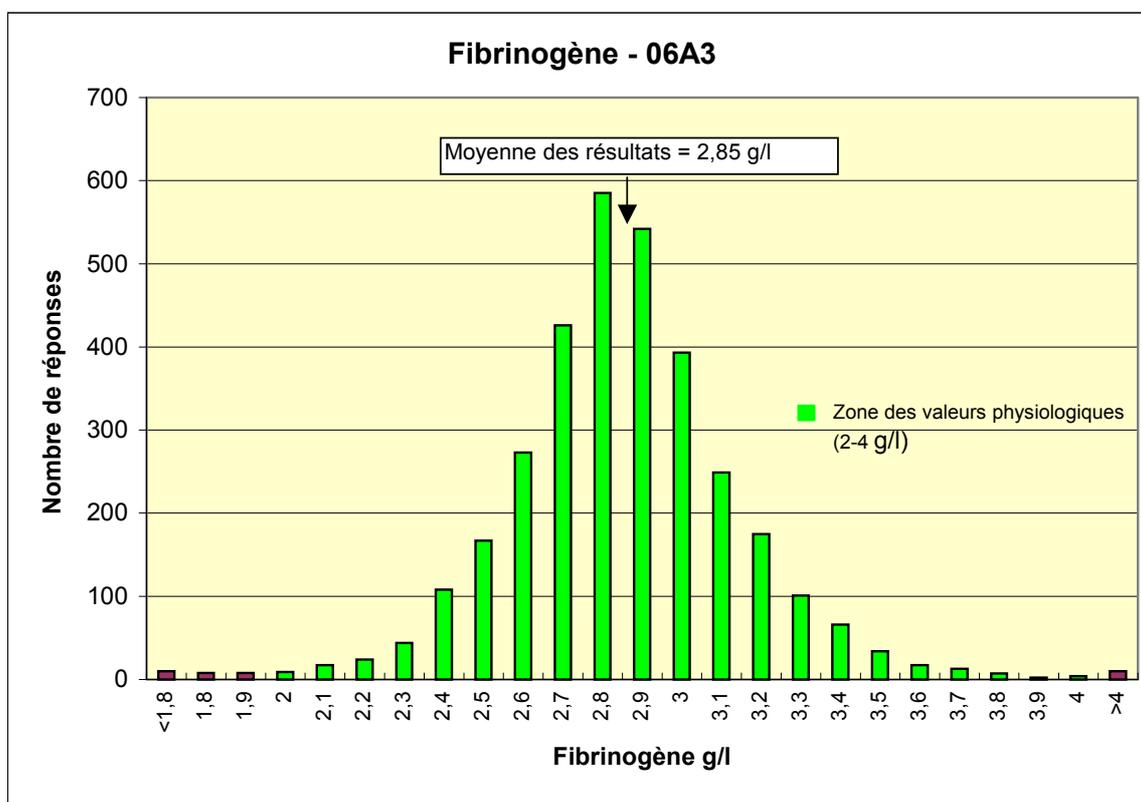


tableau XVII - résultats du fibrinogène

Réactifs	Automates	Fibrinogène (g/l) 06A3			
		n	mTr	sTr	CVTr
ENSEMBLE DES RESULTATS	Tous automates confondus	3292	2,85	0,29	10,1
BIOMERIEUX Fibriquick/ MDA Fibriquick	Tous automates confondus	150	2,69	0,33	12,4
	BIOMERIEUX Option	73	2,69	0,32	11,7
	BIOMERIEUX Thrombolyzer	32	2,54	0,25	9,9
	STAGO STA,STAR,STACompact,Satellite	11	2,85	0,14	4,8
DADE BEHRING Fibrinogène / Réactif de Thrombine	Tous automates confondus	100	2,61	0,27	10,5
	DADE BEHRING CA	92	2,60	0,24	9,1
DADE BEHRING Multifibren U	Tous automates confondus	67	3,03	0,27	9,0
	DADE BEHRING BCT / BCS	53	3,02	0,28	9,1
ELITECH / TECHNIQUE BIOLOGIQUE Auto Fibri	Tous automates confondus	13	2,75	0,48	17,3
IL HemosIL Fibrinogène C	Tous automates confondus	286	2,77	0,32	11,5
	BIOMERIEUX Option	139	2,77	0,37	13,2
	BIOMERIEUX Thrombolyzer	39	2,66	0,21	7,8
	IL ACL / FUTURA	75	2,76	0,25	8,9
IL HemosIL TP FIB	Tous automates confondus	31	3,01	0,42	13,9

	IL ACL / FUTURA	24	3,06	0,56	18,4
IL HemosIL TP FIB HS	Tous automates confondus	512	3,05	0,27	8,8
	IL ACL / FUTURA	505	3,05	0,27	8,8
IL HemosIL TP FIB HS plus	Tous automates confondus	76	2,88	0,33	11,3
	IL ACL / FUTURA	69	2,91	0,32	10,9
STAGO Fibriprest	Tous automates confondus	296	2,89	0,28	9,8
	Agitation manuelle	15	2,65	0,38	14,2
	Bain électromagnétique	16	2,66	0,34	12,6
	SIGMA / AMELUNG KC	27	2,96	0,21	7,0
	STAGO ST4, ST888, START	174	2,93	0,28	9,4
	STAGO STA,STAR,STACompact,Satellite	25	2,82	0,22	7,6
STAGO Fibriprest Automate/STA Fibrinogène/ STA FIB	Tous automates confondus	1671	2,83	0,21	7,5
	SIGMA / AMELUNG KC	11	3,07	0,30	9,9
	STAGO ST4, ST888, START	302	2,83	0,25	8,9
	STAGO STA,STAR,STACompact,Satellite	1317	2,82	0,19	6,8
TRINITY BIOTECH Amax Fibrinogène réf 886-A	Tous automates confondus	14	2,68	0,27	10,2

Le coefficient de variation toutes techniques confondues est de 10,1 %. Selon le couple réactif / automate, les coefficients de variation varient de 4,8 à 18,4 %. La dispersion reste de l'ordre de 10 % lorsqu'on analyse les résultats par méthode. Les coefficients de variation des différentes méthodes sont reportés dans le tableau XVIII, à l'exception de celui de la turbidimétrie pour laquelle le nombre de participants (7) est insuffisant.

tableau XVIII - résultats du fibrinogène par méthode

Méthode	Fibrinogène 06A3	
	n	CVTr
Méthode de Clauss	2608	9,5
Fibrinogène dérivé du TP	620	10,0
Méthode immunologique	22	11,3

Echantillon 06A9 RAI

Définition de l'échantillon

L'échantillon 06A9 est un sérum liquide, d'origine humaine, dilué en sérum de groupe sanguin AB et prêt à l'emploi.

Le dépistage RAI sur l'échantillon 06A9 par le seul test obligatoire : le test indirect à l'antiglobuline (test de Coombs indirect avec des hématies non traitées par des enzymes) était négatif. Cependant le test enzymatique pouvait être positif avec certains lots d'hématies papainées provenant de différents fournisseurs. En effet, l'échantillon 06A9 contenait un anticorps anti-érythrocytaire de spécificité « anti-RH3 », de nature IgM et de très faible concentration.

Il est rappelé que, depuis l'arrêté du 26 avril 2002, seul le test indirect à l'antiglobuline est requis pour le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires. C'est uniquement pour l'identification qu'il peut être utile voire indispensable d'utiliser en complément les techniques enzymatiques.

Par ailleurs, au cours du contrôle, certains laboratoires participants ont rapporté la présence de floculats pouvant perturber les tests effectués. Cette anomalie ne s'est donc révélée qu'après les contrôles de fabrication et la libération du lot.

Compte tenu de ces éléments, l'exploitation des résultats de l'échantillon 06A9 a été annulée. Cependant les données concernant les réactifs et méthodes ont été analysées.

Les experts L. Mannessier, EFS Lille - J. Chiaroni, EFS Marseille - A. Lejealle, EFS Le Chesnay - P. Y. Le Pennec, CNRGS Paris et F. Roubinet, EFS Tours ont testé l'échantillon.

Résultats des participants

1 – Dépistage

Compte tenu du caractère défectueux de l'échantillon 06A9, les résultats des 2528 participants ne sont pas présentés. Cependant les techniques (test indirect à l'antiglobuline) et les hématies utilisées figurent dans les tableaux XIX et XX. L'apparition croissante d'automates en immuno-hématologie nous a conduit à recueillir pour la première fois l'information sur l'utilisation ou non d'un automate pour la réalisation des RAI (tableau XXI). Il s'avère que les RAI sont le plus souvent pratiquées grâce à une technique manuelle par 1651 laboratoires, soit 65,3 %. Cependant 653 laboratoires (25,8 %) ont déclaré utiliser un automate. Restent 224 laboratoires (8,9 %) qui n'ont pas fourni d'information pour cet item.

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

Dépistage RAI : test indirect à l'antiglobuline	Nombre d'utilisateurs
BIORAD Scangel Coombs IgG,-C3d	225
BIORAD Scangel Coombs + neutral	155
BIORAD Scangel neutral	5
BIORAD Scangel anti IgG	4
BIOTEST Solidscreen II Strip / Compact	31
DIAGAST ScreenLys	11
DIAMED ID-Card LISS/Coombs	967
DIAMED ID-Card DiaScreen	95
DIAMED ID-Card Anti-IgG	31
DIAMED ID-Card LISS/Coombs+Enzyme test	562
DIAMED ID-Card NaCl, enzyme test and cold agglutinins	1
DIAMED ID-NaCl / enzymes	1
IMMUCOR Capture RS 4 cellules	16
ORTHO BioVue system anti-IgG, antiC3d (Poly)	282
ORTHO BioVue system anti-IgG,antiC3d/sol. neutre(Poly/Neutral)	116
ORTHO BioVue system anti-IgG	2
ORTHO BioVue system anti-IgG/antiC3b,C3d(DAT/IDAT)	2
ORTHO BioVue system neutral	2
Code technique non spécifié	20

tableau XX : hématies utilisées pour le dépistage

Dépistage RAI : hématies tests	Nombre d'utilisateurs
BIORAD Scangel / ScanCell	342
BIORAD Scangel / ScanCell P	29
BIORAD panel d'identification concentré	4
BIORAD Scangel / ScanPanel	2
BIOTEST Biotestcell P3	32
CNRGS panel national de référence	1
DIAGAST Hemascreeen	11
DIAMED ID Diacell I II III	1370
DIAMED ID Diacell ABO / I II III	86
DIAMED ID Diacell I II III P	71
DIAMED ID Diascreen (1-6)	64
DIAMED ID Diascreen (5-6) P	22
DIAMED ID Diascreen (1-4)	4
DIAMED ID Diapanel	2
DIAMED ID Diapanel P	2

DIAMED ID DiaPanel Plus 6	1
EFS Panel de dépistage-hématies non traitées	25
EUROBIO Formule 3	61
ORTHO 4% BioVue Screen Papaïne	207
ORTHO 4% BioVue Screen Ficine	149
ORTHO 4% BioVue TOP	11
Hématies préfixées	12
Code technique non spécifié	17
Autre	3

tableau XXI : automates utilisés pour le dépistage

Dépistage RAI : automates	Nombre d'utilisateurs
BIORAD ABS Precis 3000	26
BIORAD Galileo	15
BIORAD Scangel Reader	9
BIORAD HemOS SP	8
BIOTEST Tango	33
DIAGAST Diana / Diana Evolution	9
DIAGAST FreeLys Nano	8
DIAGAST Qwalys	6
DIAMED Swing + Saxo	209
DIAMED ID gel station	27
DIAMED Techno	15
GRIFOLS WADiana Compact ou ORTHO AutoVue Innova *	212
ORTHO Mitis 2 + BioVue Reader 2	51
ORTHO AutoVue	14
ORTHO AutoVue Innova *	7
Code automate non spécifié	224
Autre	4
Technique manuelle	1651

* Suite à une erreur de code, le nombre d'utilisateurs de GRIFOLS WADiana Compact et ORTHO AutoVue Innova n'est pas précisément déterminé.

2 – Identification

Un faible nombre de laboratoires (71) a réalisé l'identification. De ce fait, le récapitulatif des techniques, hématies et automates n'est pas représentatif de l'ensemble des laboratoires pratiquant l'identification (274 en 2005) et ne figure donc pas dans ce texte.

Commentaires

Malgré le caractère défectueux de l'échantillon 06A9, l'opération 06HEM1 a permis de recenser comme à l'habitude les techniques et hématies utilisées par les laboratoires. Pour la première fois, l'item « utilisation d'un automate ou d'une technique manuelle » figurait sur le bordereau-réponse. On a relevé que 65 % des laboratoires utilisent encore une technique manuelle pour l'étape de dépistage de la RAI.

La particularité de l'échantillon 06A9 qui contenait un anticorps anti-RH3, de nature IgM et de très faible concentration, sans intérêt transfusionnel et pouvant être mis en évidence en technique enzymatique avec certains lots d'hématies papaïnées fournit l'occasion de rappeler que, depuis l'arrêté du 26 avril 2002 (1), seul le test indirect à l'antiglobuline est requis pour le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires. C'est uniquement pour l'identification qu'il peut être utile voire indispensable d'utiliser en complément les techniques enzymatiques.

Bibliographie

(1) Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale - annexe générale – C. – Cas particulier des bonnes pratiques de laboratoire en immuno-hématologie érythrocytaire.

Conclusion

Le diagnostic cytologique du frottis 06AF « splénomégalie myéloïde » ou « myélofibrose » a été cité par 84 % des participants. La présence sur le frottis de dacryocytes, de macroplaquettes, d'une érythromyélocytémie, associée aux informations fournies dans la présentation de ce cas (splénomégalie, anémie, thrombopénie) constituait les éléments à prendre en compte. Une opération réalisée en 2000 portant sur le même diagnostic avait donné 45 % de réponses conformes à la réponse attendue. L'amélioration est donc notable.

Les résultats du dosage du fibrinogène sur l'échantillon 06A3, de taux normal (moyenne = 2,85 g/l) présentent un CV de 10,1 % toutes techniques confondues. La méthode de Clauss est la méthode la plus utilisée (80 % des participants). Les CV sont du même ordre quelle que soit la méthode employée.

L'exploitation des résultats de la RAI sur l'échantillon 06A9 a été annulée. Cependant l'opération 06HEM1 a permis de montrer que 26 % des laboratoires utilisent un automate. Par ailleurs, il est rappelé que seul le test indirect à l'antiglobuline est requis pour le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires. C'est uniquement pour l'identification qu'il peut être utile voire indispensable d'utiliser en complément les techniques enzymatiques