

Examens d'hématologie cellulaire



*Vous avez quitté la plateforme de France Université Numérique.
Aucune donnée personnelle ne sera récupérée.*

Pour démarrer cette séquence, veuillez cliquer sur "Ecran suivant" ➤

Certaines diapositives facultatives sont signalées par une croix orange :
leur contenu est un peu plus complexe et ne sera pas au programme des évaluations.



U-PC

Université Sorbonne
Paris Cité

université
PARIS
DIDEROT
PARIS 7



UNIVERSITÉ
PARIS
DESCARTES

UNIVERSITÉ
PARIS
NORD

UPEC
Connaissance - Action

UNIVERSITÉ
PARIS-EST CRÉTEIL
VAL DE MARNE



ASSISTANCE
PUBLIQUE
HÔPITAUX
DE PARIS

Hôpitaux Universitaires
SAINT-Louis
LARIBOISIÈRE
FERNAND-WIDAL

Hôpitaux
Universitaires
Paris-Saint-Denis
Assistance
Publique
Hôpitaux
de Paris

HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PARIS CENTRE
Paris - Port-Royal - Trousseau - Bicêtre
La Timone - Le Kremlin-Bicêtre - Hôpital Saint-Louis

HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PARIS NORD VAL DE SEINE
Louis-Mourier

Necker
Centre hospitalier
universitaire

hm
HENRI MONDOR
Centre hospitalier
universitaire

Hôpital universitaire
Robert Debré

Hôpitaux universitaires
PARIS OUEST
Assistance
Publique
Hôpitaux
de Paris

Examens d'hématologie cellulaire



Bienvenue !



Les examens d'hématologie cellulaire

Docteur Raphaël Itzykson
Hématologue
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot

A partir d'un support du Docteur Stéphanie Mathis
Hémato-biologiste
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Examens d'hématologie cellulaire



Objectif du module

1

- A l'issue de ce module, vous serez capable de connaître les principaux examens permettant d'explorer l'hématopoïèse



La durée de votre formation est estimée à 20 minutes

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Hématopoïèse



= Ensemble des mécanismes qui assurent la production des différentes cellules sanguines

◆ Lieu de production : moelle osseuse

◆ Production régulée

- ◆ Microenvironnement médullaire
- ◆ Facteurs de croissance

◆ Production constante

Globules rouges

Nombre

20.10^{12}

Durée de vie

120 j

Production

200.10^9

PN neutrophiles

$0,5.10^{12}$

24 h

50.10^9

Plaquettes

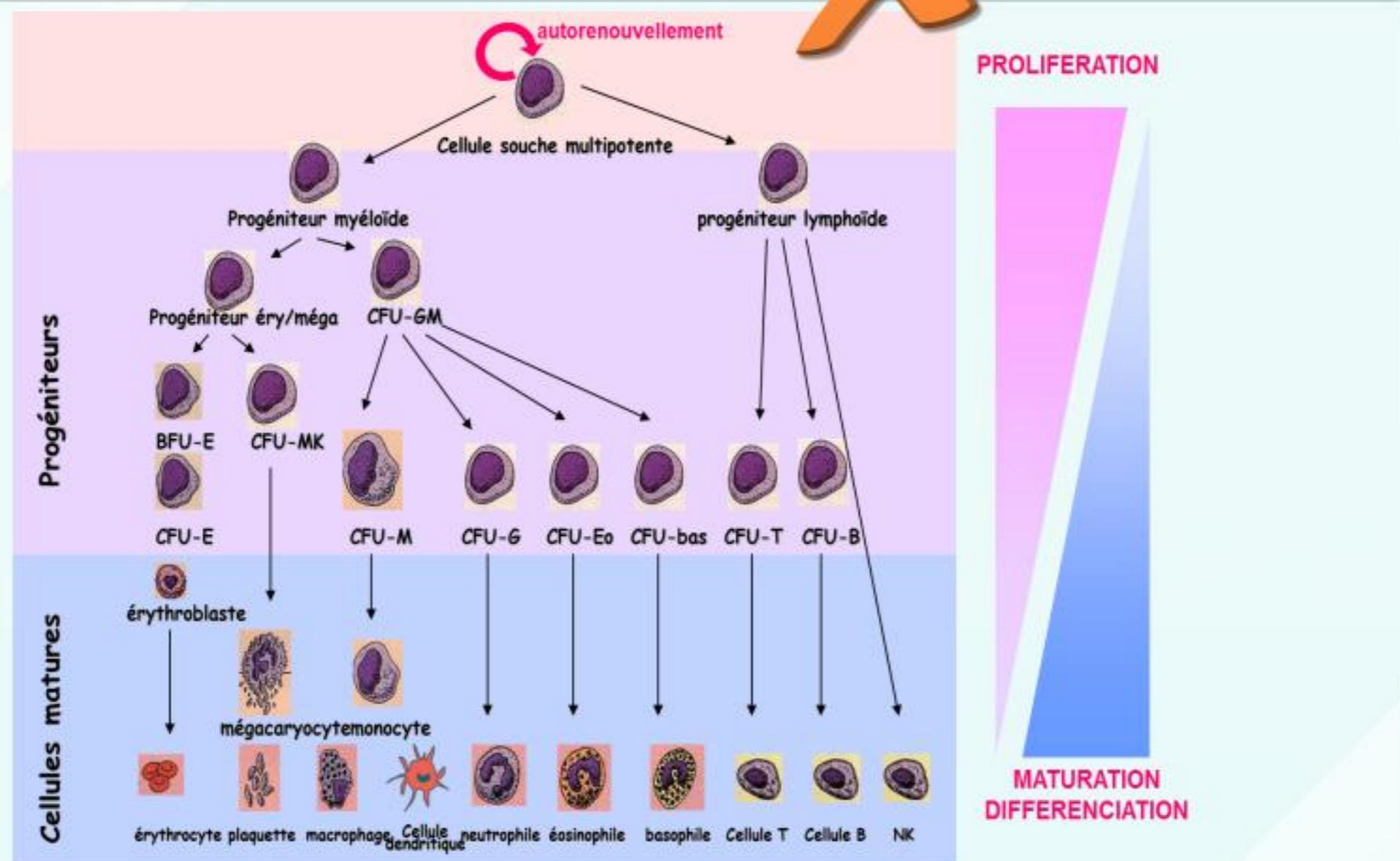
$1,0.10^{12}$

7 j

100.10^9

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Prolifération - Maturation - Différenciation



Les termes "cellules souches", "différenciation", "auto-renouvellement" sont définis dans le glossaire

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Comment explorer l' hématopoïèse ?



Examens du sang périphérique

Numération Formule Sanguine (NFS) ou
hémogramme +/- dosage des réticulocytes

Examens de la moelle osseuse

Myélogramme
Biopsie ostéomédullaire

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Examens du sang périphérique



◆ Numération Formule Sanguine (NFS) ou hémogramme

- ◆ Réalisé à partir de sang total
- ◆ Sang prélevé sur anticoagulant (EDTA) par voie veineuse au pli du coude



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Numération Formule Sanguine



◆ Analyse quantitative des éléments figurés du sang

- ◆ « la numération globulaire » est le nombre de leucocytes (= globules blancs), d'érythrocytes (= globules rouges), de plaquettes par litre de sang (+/- réticulocytes)
- ◆ « la formule leucocytaire » est le nombre d'éléments nucléés (polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, polynucléaires basophiles, lymphocytes et monocytes) par litre de sang

◆ Analyse qualitative des éléments figurés du sang = « frottis sanguin »

- ◆ Analyse morphologique des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Numération Formule Sanguine : Analyse quantitative



- ◆ Mesure automatisée sur un automate de numération cellulaire
 - ◆ Nombre des éléments pour un volume de sang donné

Numération globulaire

Paramètres mesurés

- ❖ Globules rouges (T/L)
- ❖ Hémoglobine (g/dL)
- ❖ VGM ou volume globulaire moyen (fL)
- ❖ Réticulocytes (G/L)
- ❖ Globules blancs (G/L)
- ❖ Plaquettes (G/L)

Paramètres calculés

- ❖ Hématocrite (%) = GR x VGM x 10-1
- ❖ TCMH ou Teneur corpusculaire moyenne en Hb (pg) = (Hb x 10)/nb GR
- ❖ CCMH = Concentration corpusculaire moyenne en Hb (g/dL) = (Hb x 1000)/Ht



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Numération Formule Sanguine : Analyse quantitative



Formule leucocytaire

- ◆ Mesure automatisée
- ◆ Analyse des cinq sous populations de globules blancs
 - ◆ Répartition en %
 - ◆ Valeurs absolues (G/L)

- ❖ Polynucléaires neutrophiles
- ❖ Polynucléaires éosinophiles
- ❖ Polynucléaires basophiles
- ❖ Lymphocytes
- ❖ Monocytes



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

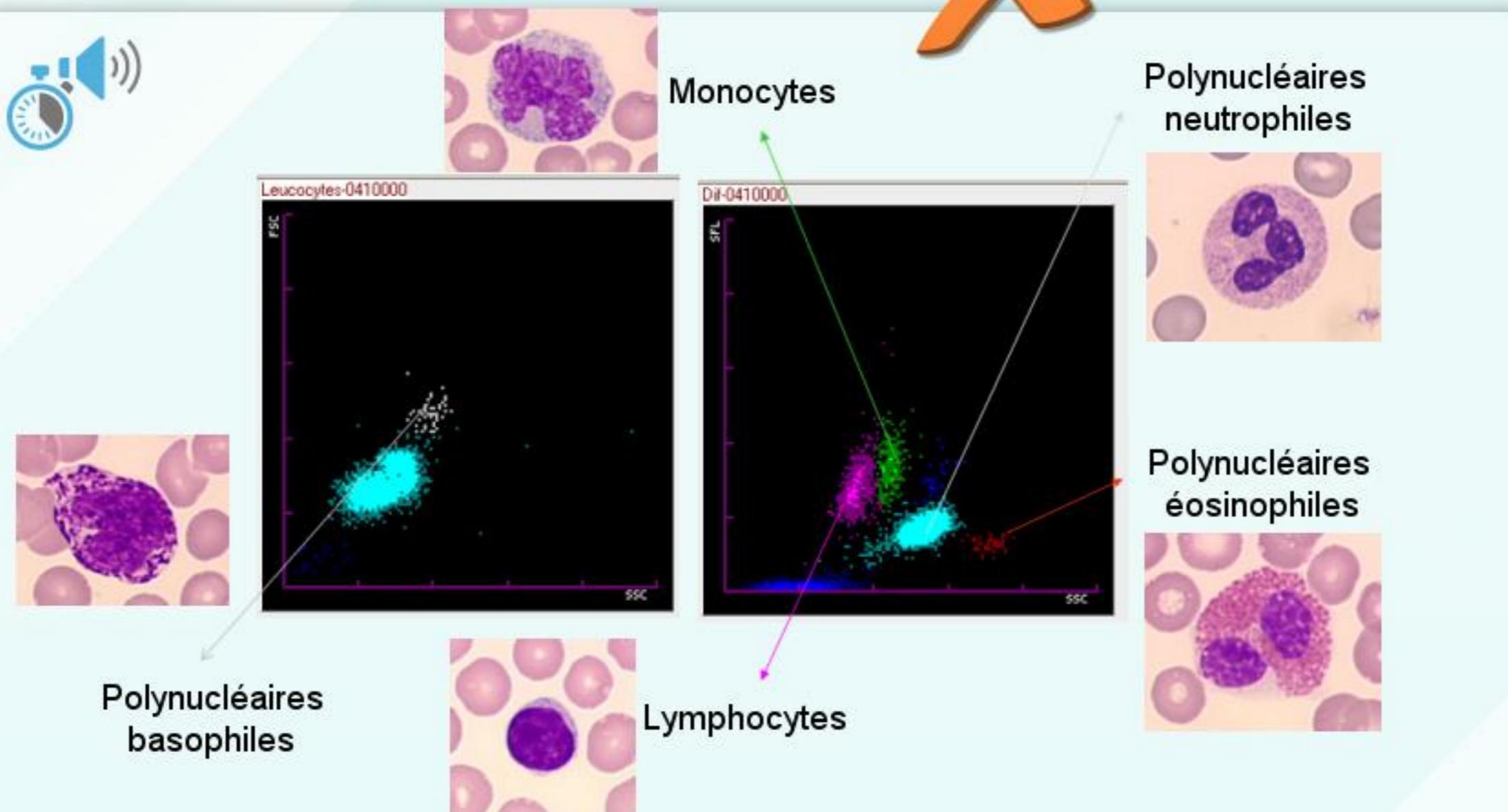
Numération globulaire : valeurs usuelles



	Adulte homme	Adulte femme	Enfant	Nouveau né	Modifications physiologiques
GR $10^{12}/l$	4.5 à 6.2	4.0 à 5.4	3.6 à 5.0	5.0 à 6.0	
Hb g/dl	13 à 18	12 à 16	12 à 16	14 à 20	grossesse 2em e trimestre <10.5
Ht %	40 à 54	35 à 47	36 à 47	44 à 62	
VGM fentolitres	80 à 100	80 à 100	75 à 85		Alcool VGM 100-102 fL
CCMH g/dL	31 à 36	31 à 36	31 à 36	31 à 36	
TCMH pg	27 à 32	27 à 32	27 à 32	27 à 32	
GB $10^9/l$	4.0 à 10.0	4.0 à 10.0	4.0 à 12.0	10.0 à 25.0	Fumeurs GB>12.0
Plaquettes $10^9/l$	150 à 450	150 à 450	150 à 450	150 à 450	

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Formule leucocytaire automatisée



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Numération formule sanguine : analyse qualitative



◆ Examen du frottis sanguin

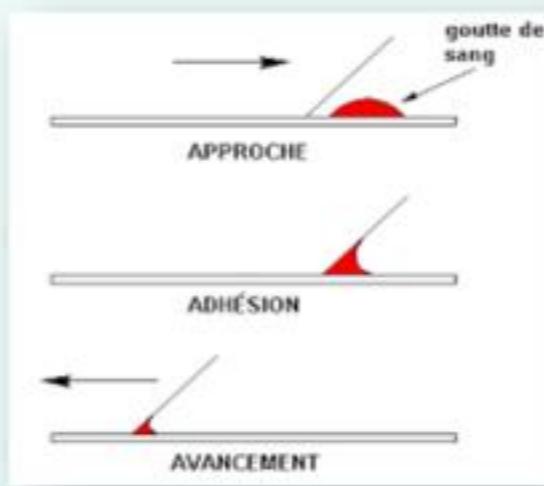
- ◆ analyse morphologique des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes
- ◆ décompte des éléments nucléés = **formule leucocytaire manuelle**

Comment le réaliser ?

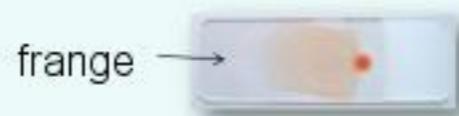
1- dépôt d'une fine goutte de sang



2- étallement sur lame



3- frottis sanguin non coloré



4- frottis sanguin coloré au May Grunwald Giemsa (MGG)



5- lecture au microscope

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

NFS pathologique



Anémie	Hb < 13 g/dL (homme) Hb < 12 g/dL (femme) Hb < 14 g/dL (nouveau né) Hb < 12 g/dL (enfant)
Microcytose	VGM < 80 fL
Macrocytose	VGM > 100 fL
Hypochromie	CCMH < 31 g/dL
Régénératif	Réticulocytes > 150 G/L
Arégénératif	Réticulocytes < 100 G/L
Polyglobulie	Hématocrite > 54% (homme) Hématocrite > 47% (femme)
Thrombopénie	Plaquettes < 150 G/L
Thrombocytose	Plaquettes > 450 G/L
Leucopénie	GB < 4 G/L
Leucocytose	GB > 10 G/L

Neutropénie	PNN < 1,70 G/L
Neutrophile	PNN > 7 G/L
Lymphopénie	Ly < 1 G/L
Lymphocytose	Ly > 4 G/L
Monocytopénie	Mono < 0,2 G/L
Monocytose	Mono > 1 G/L
Eosinophilie	PNE > 0,5 G/L
Basophile	PNB > 0,2 G/L

+ anomalies morphologiques des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

NFS pathologique



- ◆ Toute anomalie de la NFS doit être explorée.

anémie normo/macrocytaire arégénérative
et/ou neutropénie
et/ou thrombopénie

= pancytopenie

- ◆ Examens sanguins complémentaires nécessaires
 - ◆ Cause réactionnelle ? (infectieuse, virale, immune ...)
 - ◆ Cause centrale ? (exploration de la moelle osseuse)

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Comment explorer l'hématopoïèse ?



Examens du sang périphérique

Numération Formule Sanguine (NFS) ou
hémogramme +/- dosage des réticulocytes

Examens de la moelle osseuse

Myélogramme
Biopsie ostéomédullaire

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Exploration de la moelle osseuse

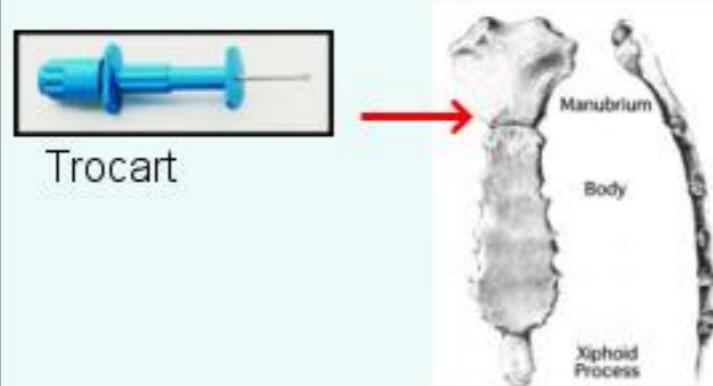


- ◆ **Myélogramme** : analyse cytologique
 - ◆ Examen **quantitatif**
 - ❖ pourcentages relatifs des éléments des différentes lignées médullaires
 - ◆ Examen **qualitatif**
 - ❖ évaluation de la morphologie cellulaire et mise en évidence de dysplasies
- ◆ Biopsie ostéo-médullaire : analyse histologique

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Ponction sternale

- ◆ Adulte
- ◆ Siège : sternum (manubrium)



Ponction iliaque

- ◆ Enfants ou Adulte si contre-indication à la ponction sternale
- ◆ Siège : crête iliaque postérieure



Anesthésie locale +++



Patch lidocaïne
(superficielle)

Injection locale de xylocaïne
(profonde : peau + tissus sous
cutanés + périoste)



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Myélogramme



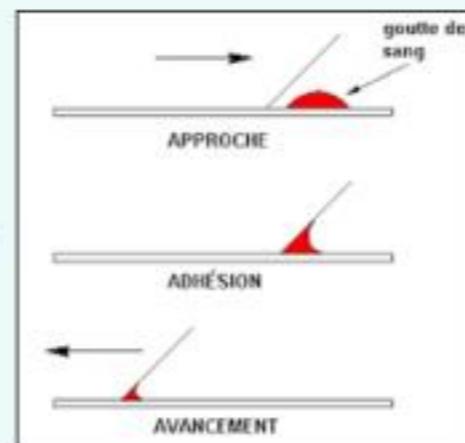
1- Etalement fin = frottis médullaire

1ère aspiration
(gouttes)



Aspirations de
moelle osseuse

2ème aspiration
(1-2 mL)



2- Examens complémentaires

Exemple : cytogénétique
=> tubes adaptés



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytologie



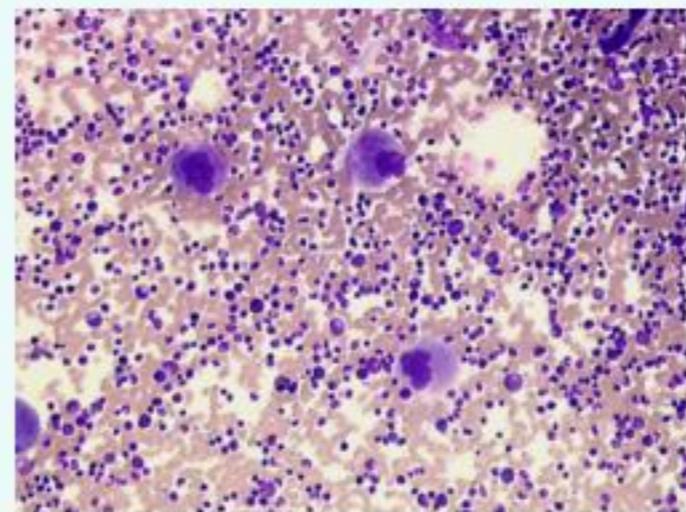
1- Coloration au May Grunwald Giemsa (MGG)



Frottis médullaire non coloré



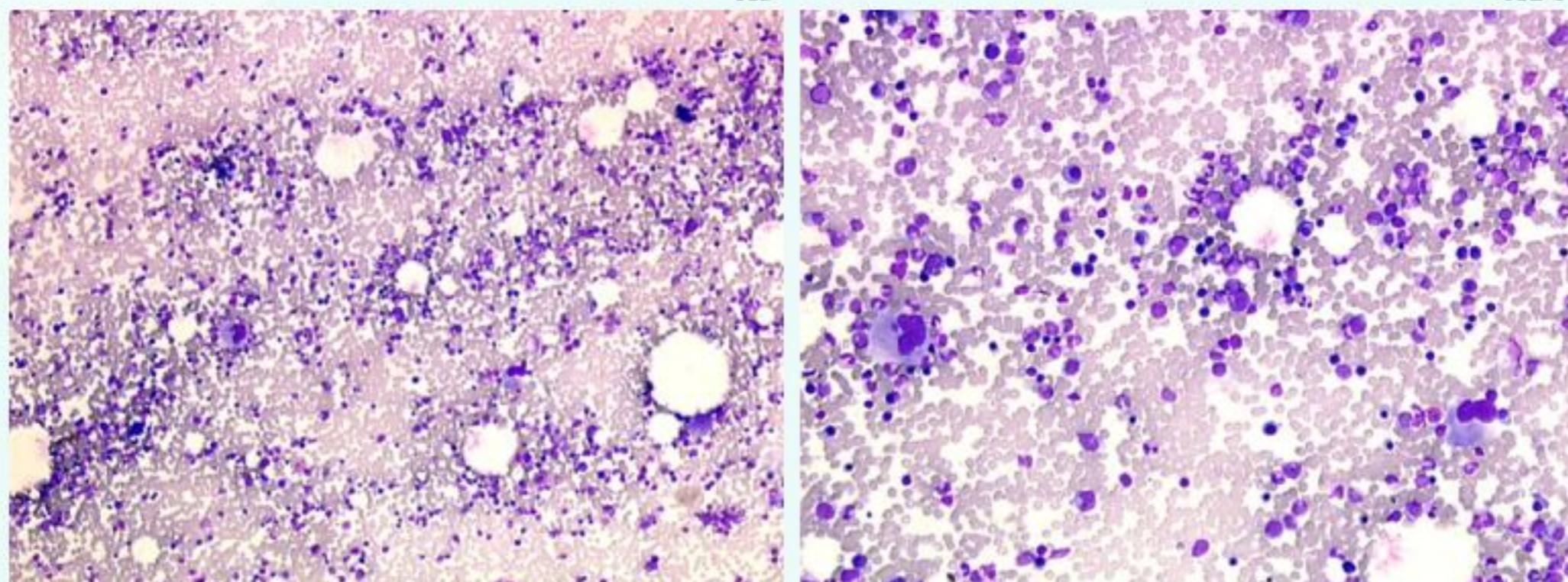
2- Lecture au microscope



- ◆ Evaluation de la richesse médullaire
 - ❖ Etude des mégacaryocytes
 - ❖ Décompte en pourcentage des différentes lignées myéloïdes et non myéloïdes
 - ❖ Analyse morphologique des différentes lignées

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

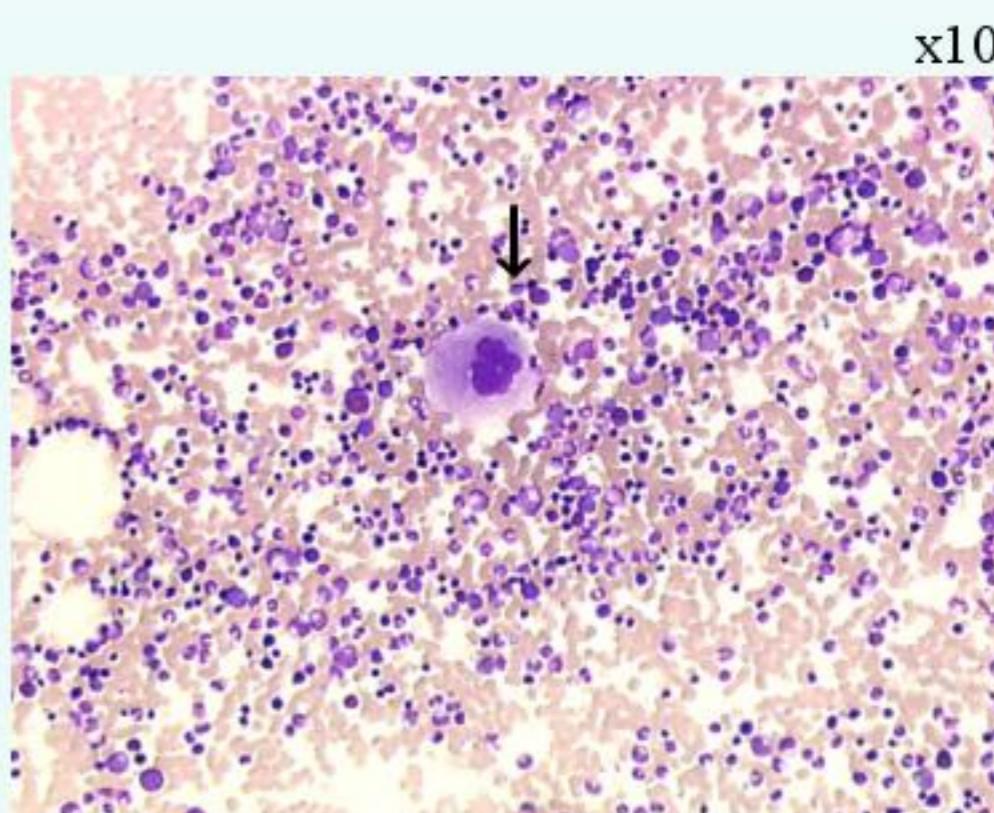
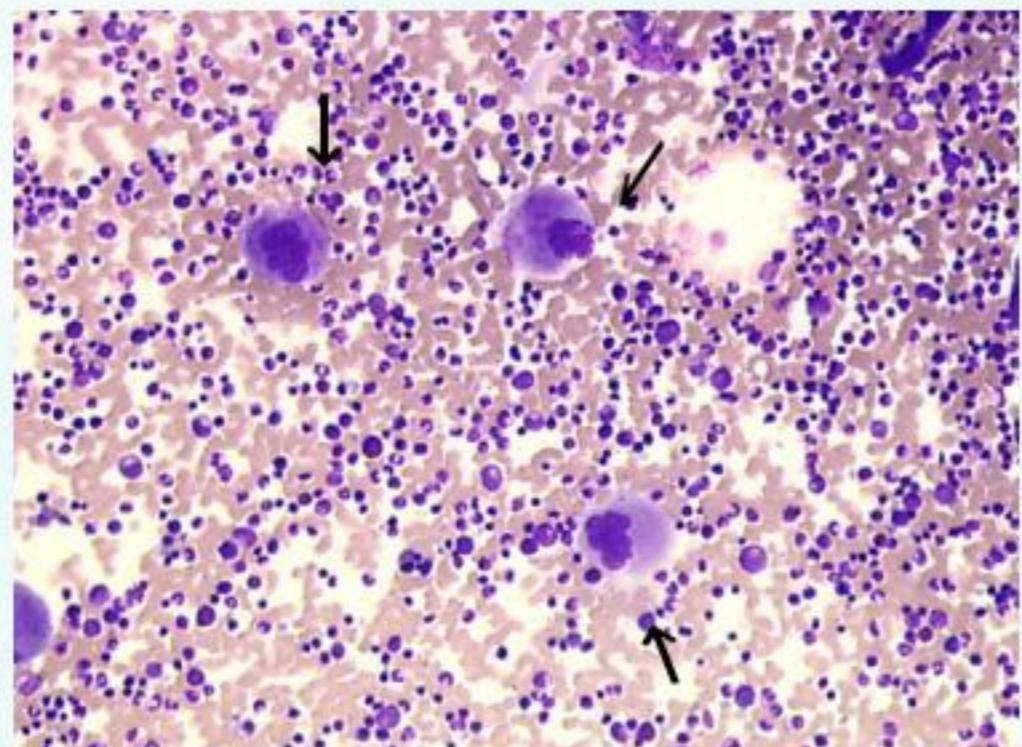
Cytologie



Evaluation de la richesse médullaire
(= moelle de richesse normale)

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytologie



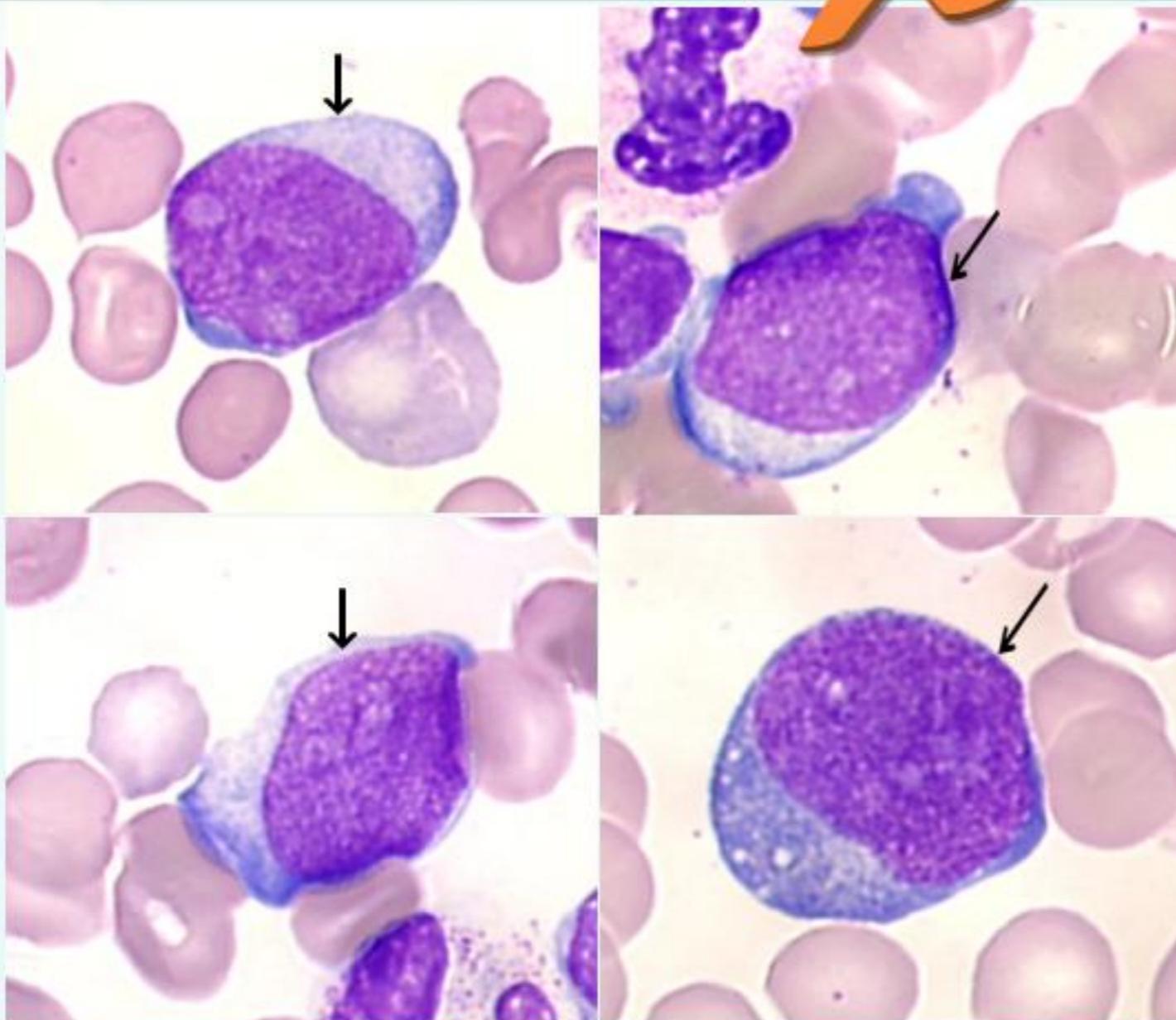
Etude des mégacaryocytes ou précurseurs myéloïdes plaquettaires (nombre et aspect)

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cellules indifférenciées immatures : hémoblastes

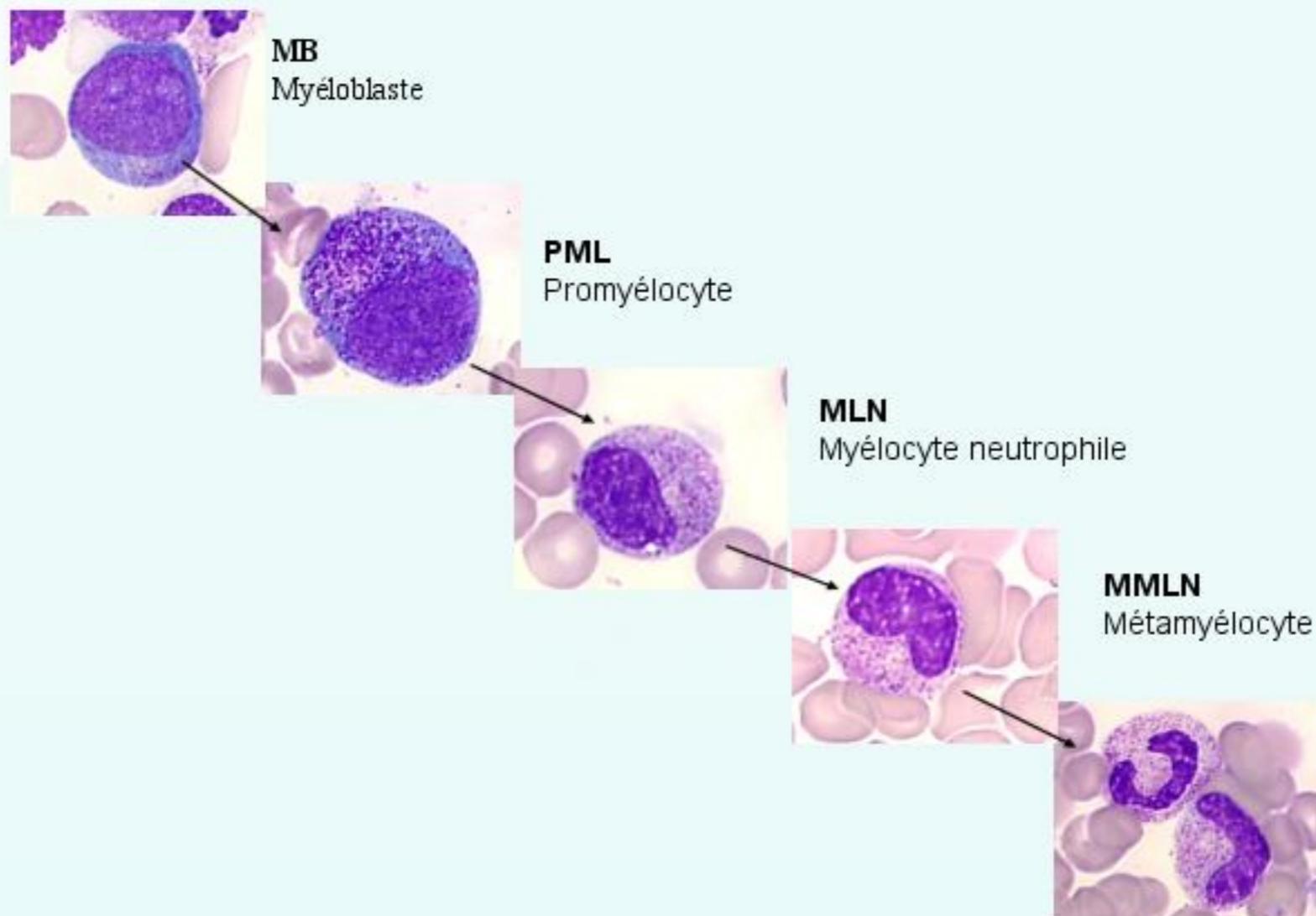


x100



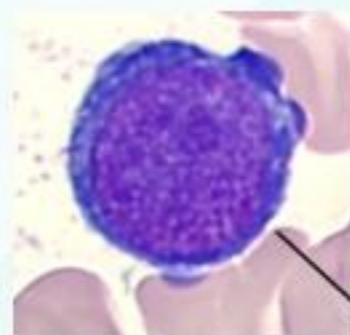
Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

La lignée myéloïde neutrophile = granulopoïèse normale



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

La lignée érythroblastique = Erythropoïèse normale



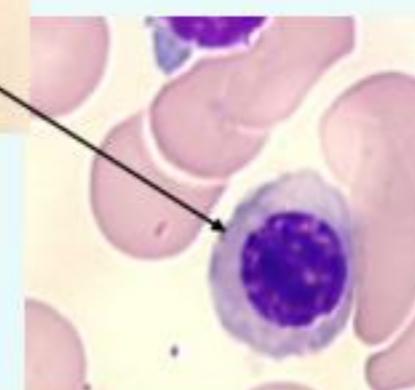
PROER
Proérythroblaste



ERB
Érythroblaste basophile



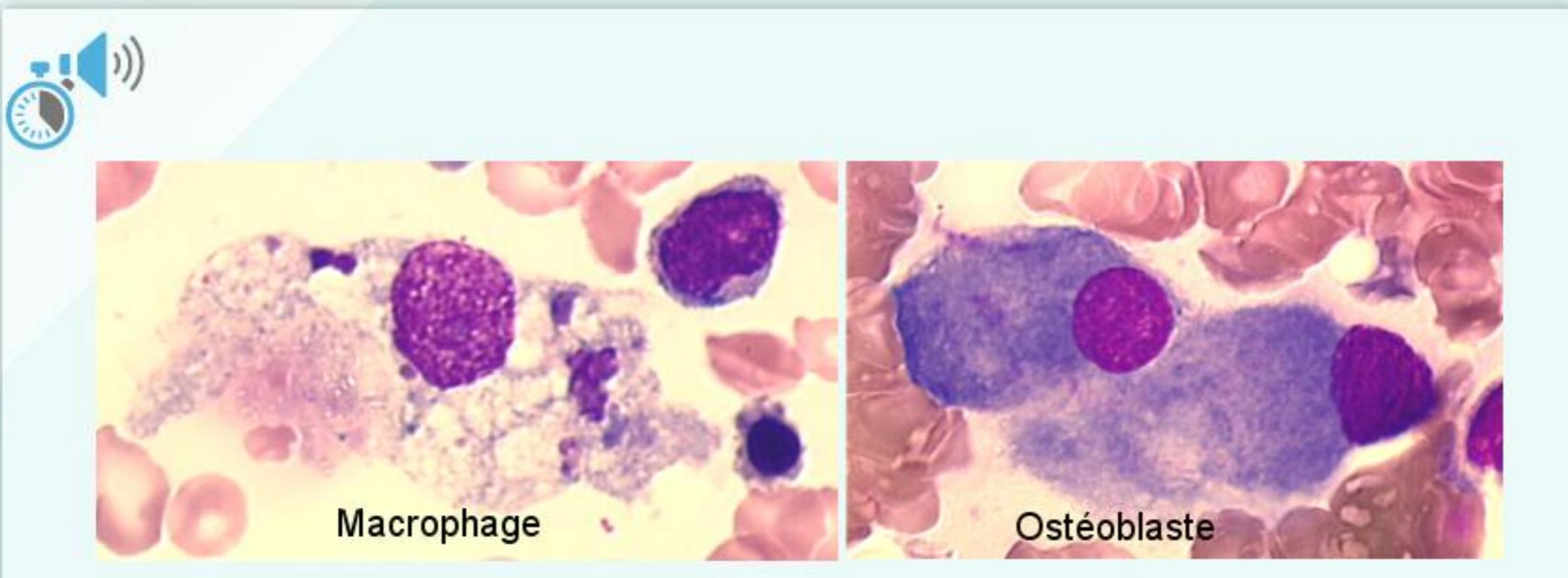
ERP
Érythroblaste polychromatophile



ERA
Érythroblaste acidophile

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Autres éléments médullaires du microenvironnement



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Compte rendu d'un myélogramme



Site de prélèvement
Dureté de l' os
Richesse

(valeurs normales)

<u>Lignée mégacaryocytaire</u>	présente	<u>Lignée érythroblastique</u>	8 à 25%
Cellules indifférenciées	0-3%	Proérythroblastes	0 - 2
		Érythroblastes basophiles	2 – 8
<u>Lignée myéloïde</u>	45 à 75%	Érythroblastes polychromatophiles	5 – 10
		Érythroblastes acidophiles	7 – 15
Myéloblastes	1 - 3	<u>Lignée lymphoïde</u>	5 à 15%
Promyélocytes	2 - 8		
Myélocytes neutrophiles	5 - 15	Lymphoblastes	0
Métamyélocytes neutrophiles	10 -20	Lymphocytes	5 - 15
Polynucléaires neutrophiles	15 -30	Plasmocytes	1 – 2
Myélocytes éosinophiles	0 - 1		
Métamyélocytes éosinophiles	0 - 1	Autres cellules	0
Polynucléaires éosinophiles	0 - 1		
Basophiles	0 – 2	Commentaires	
Monocytes	0 - 3		
		Conclusion	

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux : analyse immunophénotypique

◆ Principe

- 
- 
- ◆ Technique biologique d'analyse de cellules en suspension
 - ◆ Détection d'antigènes à la surface ou dans le cytoplasme des cellules grâce à des anticorps monoclonaux couplés à un fluorochrome

◆ Indications

- ◆ **Préciser l'appartenance des cellules tumorales à une lignée (myéloïde ou lymphoïde)**
- ◆ **Indispensable pour le diagnostic et la classification de certaines pathologies = hémopathies**

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux



◆ Principaux antigènes de lignée

◆ Système hématopoïétique

▫ CD45

◆ Lignée lymphoïde

▫ Marqueurs B : CD19, CD20, CD22, CD79b

▫ Marqueurs T : CD3, CD2, CD5, CD7 (+/- CD4, CD8)

▫ Marqueurs NK : CD3- CD56+ CD16+

◆ Lignée myéloïde

▫ CD13, CD33

▫ Marqueurs érythroides : CD235a (glycophorine)

▫ Marqueurs plaquettaires : CD41, CD42, CD61

▫ Marqueurs monocytaires : CD14, CD64

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux : mode opératoire



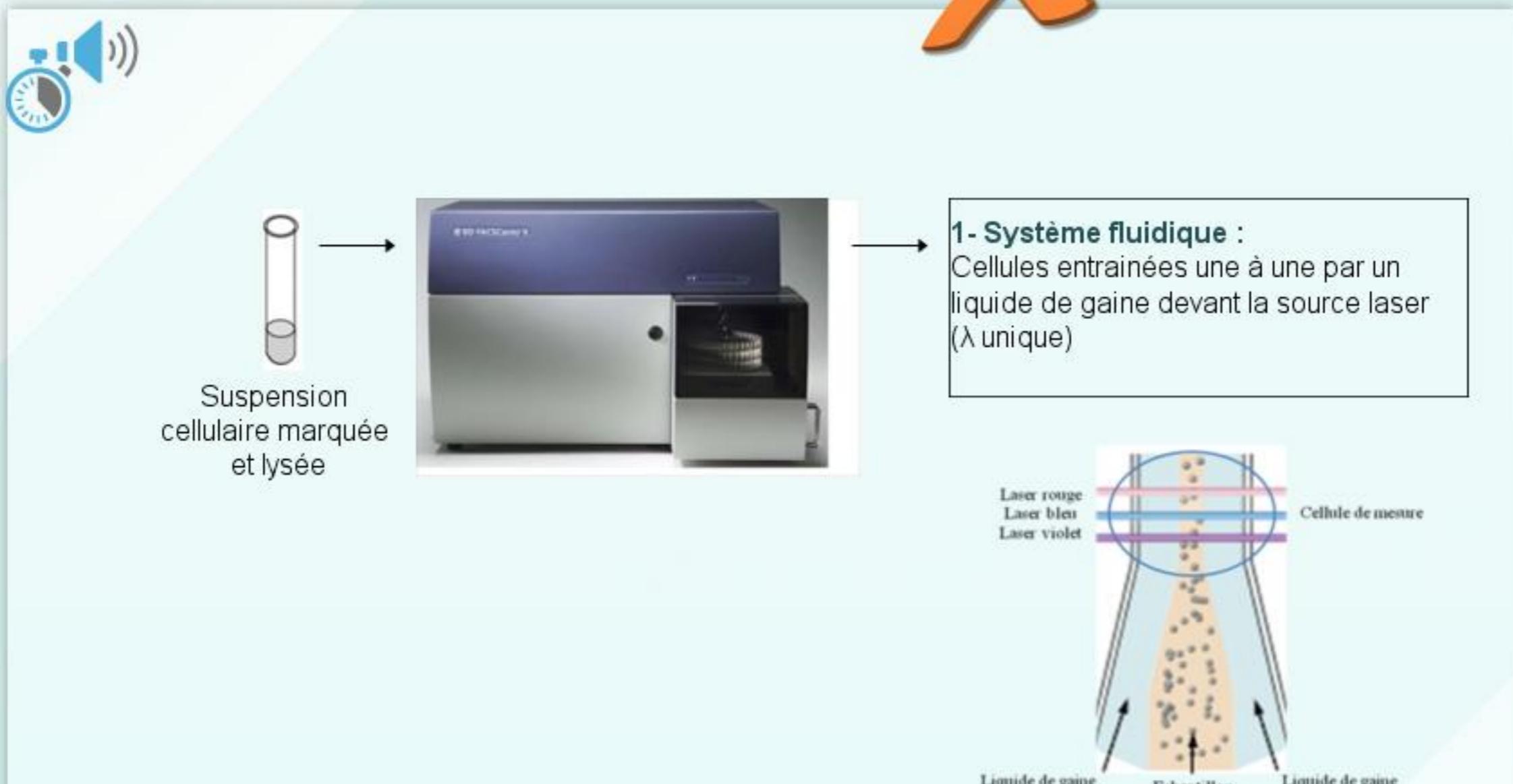
Fluoro-chromes	Laser bleu (λ : 488 nm)	Laser rouge (λ : 633-638 nm)		Laser violet (λ : 405 nm)				
λ max d'excitation	FITC	PE	PE-Cy5	PE-Cy7	APC	APC-Cy7	V450 ou PB	V500 ou AmCyan
	494 nm	496 nm	496 nm	496 nm	650 nm	650 nm	404 nm	415 nm



Émission de fluorescence à une λ bien précise

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux : principe

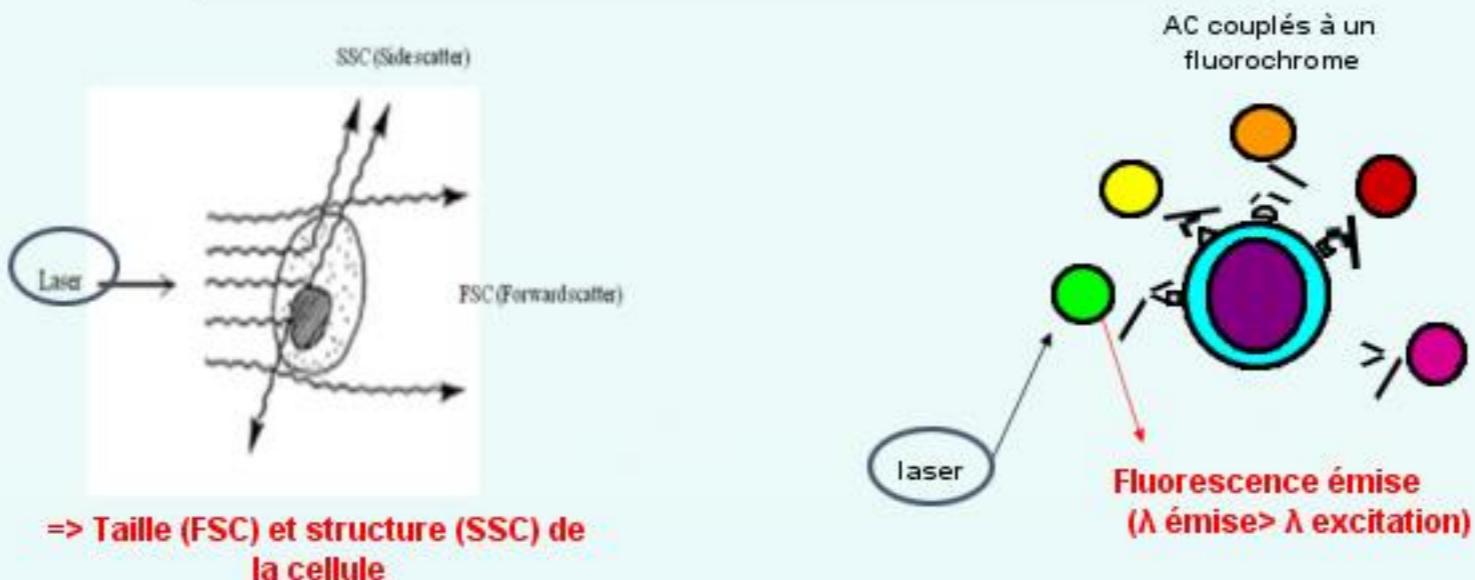


Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux : principe



2- Cellule de mesure
diffraction de la lumière du laser et excitation
du fluorochrome par le faisceau
laser



=> Taille (FSC) et structure (SSC) de
la cellule

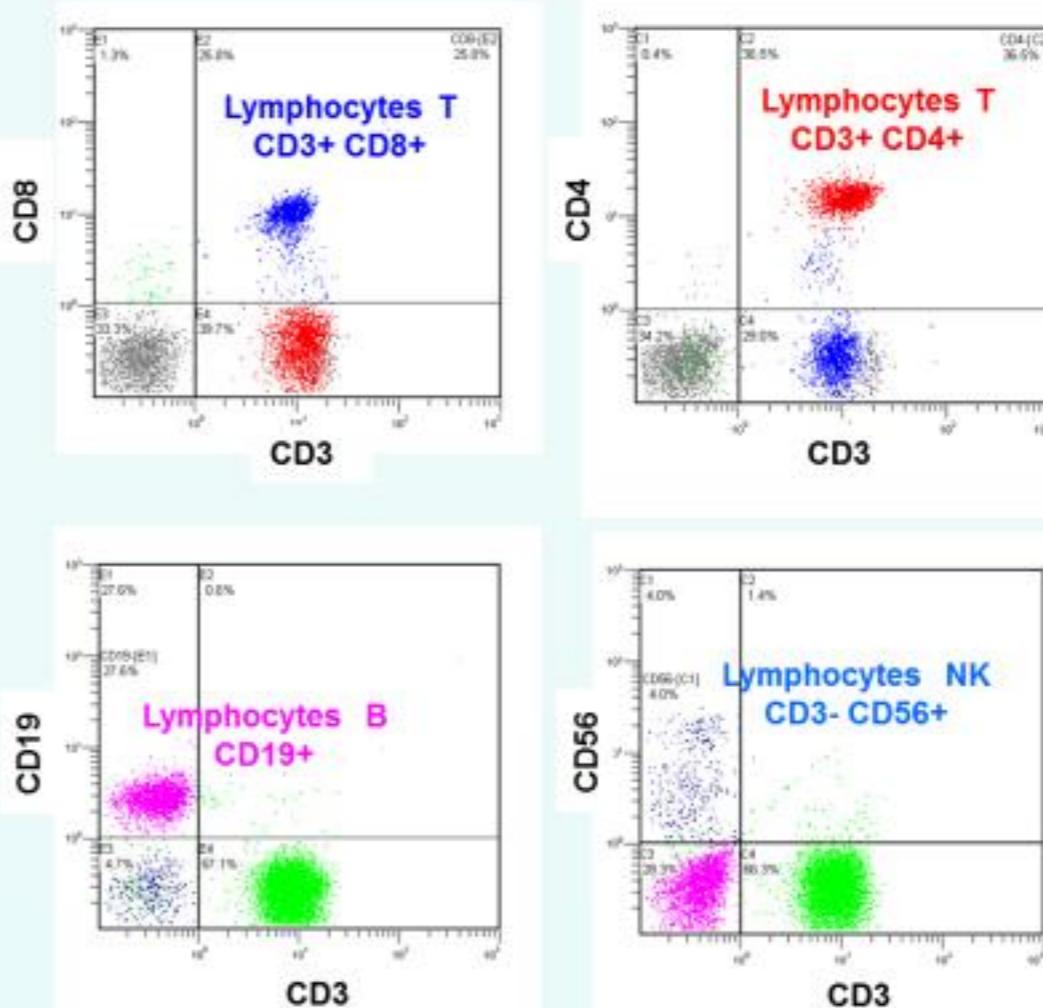
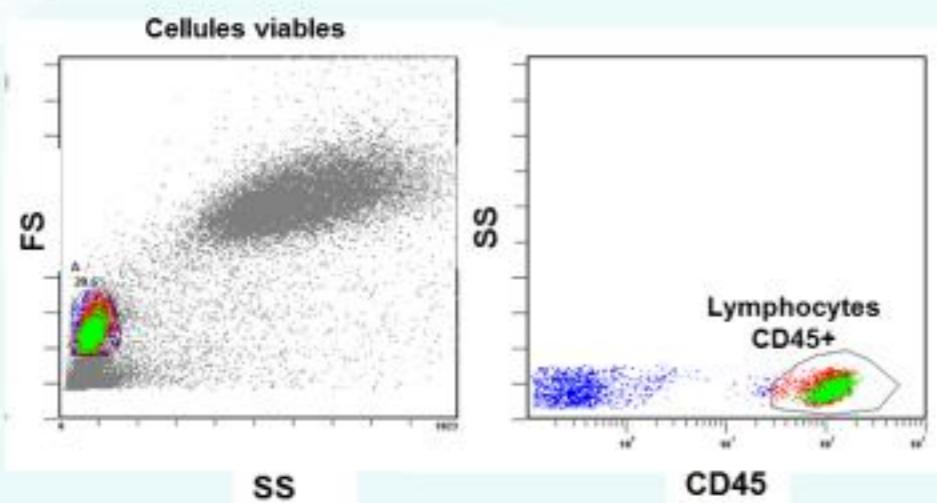
Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytométrie en flux : analyse



Exemple :

Immunophénotypage lymphocytaire
sanguin normal



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

En résumé



Hématopoïèse

Numération Formule Sanguine

Si anomalies quantitatives et qualitatives

Examens de la moelle osseuse

Myélogramme

- Analyse cytologique
- Examens complémentaires (cytométrie en flux, cytogénétique, biologie moléculaire)

Biopsie ostéo-médullaire

- Analyse histologique

Pathologies du système hémato-poïétique ou hémopathies

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation



Merci d'avoir suivi ce cours.

Et rendez-vous pour la suite de votre formation,
avec un diaporama commenté sur :
"la cytogénétique en hématologie biologique"