

La contamination d'un prélèvement de moelle par du sang périphérique peut affecter la recherche de cellules anormales en particulier pour les faibles infiltrations (ex : maladie résiduelle).

Il est donc important de pouvoir évaluer la représentativité de la suspension analysée.

De nombreuses méthodes ont été décrites (sans qu'il y ait ni technique ni seuil d'interprétation consensuels), en voici quelques-unes, à adapter en fonction des possibilités et des besoins spécifiques de chaque laboratoire.

Il peut être intéressant de l'intégrer sur le compte-rendu en fonction de l'impact de la dilution sur l'interprétation (risque de sous-estimation ou de non détection de cellules anormales).

Calcul de la « pureté »

- Méthode : calcul selon la formule de **Holdrinet** : [Holdrinet et al.]

$$\text{Pureté (\%)} = \frac{1 - (\text{GR MO} / \text{GR sang})}{(\text{GB sang} / \text{GB MO})} \times 100$$

Avec « GR MO/sang » : concentration en hématies (GR) de la suspension de moelle (MO) ou de sang

« GB MO/sang » : concentration en leucocytes (GB) de la suspension de moelle ou de sang

Les unités sont indifférentes (calcul d'un ratio) mais doivent être les mêmes pour les GR et pour les GB

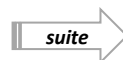
- Interprétation : échantillon de qualité correcte si **pureté > 80%** [Brooimans et al.]
sinon la part d'hémodilution est d'autant plus importante que le pourcentage se rapproche de 0%
- Inconvénient : nécessité d'avoir un tube de sang du jour et un automate de numération

Contrôle cytologique

- Méthode : décompte au microscope du pourcentage de différentes sous populations sur un frottis réalisé à partir de la suspension à analyser et coloré au May-Grünwald Giemsa
- Interprétation : échantillon de qualité suffisante si **Lymphocytes < 20% et PNN < 40%** [Fossat et al.]
et présence d'érythroblastes
- Inconvénient : nécessité de réaliser un frottis coloré et d'avoir un microscope optique

Contrôle cytométrique

- Méthode : identification en cytométrie de sous populations normales spécifiques de la moelle ou prédominantes dans le sang
- Interprétation : échantillons de qualité correcte si
Présence en quantité limitée de sous populations prédominant dans le sang :
 - ✓ Lymphocytes T : **CD3^{Pos} < 20%** (et érythroblastes : **GPA^{Pos} > 15%**) [Bjorklund et al.]
 - ✓ PNN : **CD16^{high} < 30%** [Loken et al.]
 - ✓ Lymphocytes : **CD45^{high} SS^{low} < 20 %** et PNN : **CD16^{high} SS^{high} < 40%** [Fossat et al.]



CytHem-QUESTIONS

Comment évaluer la qualité d'un prélèvement de moelle ? 2/2

Contrôle cytométrique (suite)

Présence de sous populations normales spécifiques de la moelle (ces sous-populations normales peuvent servir de dénominateur pour le calcul d'un ratio ou effectuer une normalisation) :

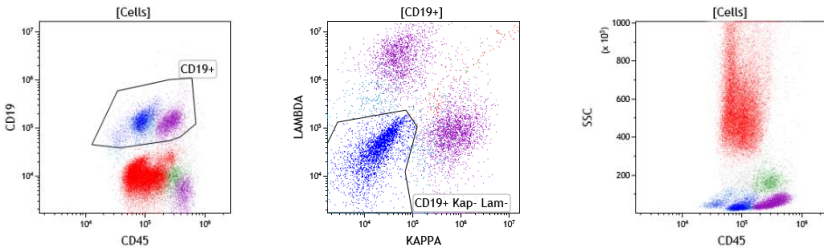
- ✓ Hématogones : $CD45^{dim} CD19^{pos} CD38^{high}$
- ✓ Précurseurs myéloïdes (hors LAM...) : $CD45^{dim} CD34^{pos} CD117^{pos}$ [Frébet et al.]
- ✓ Plasmocytes (hors myélome..) : $CD38^{high++}$
- ✓ Erythroblastes : $CD45^{neg} CD36^{high}$

- Avantage : analyse du fichier de cytométrie ; pas de manipulation ni d'équipement supplémentaire
- Inconvénient : dépend des marqueurs présents dans le tube

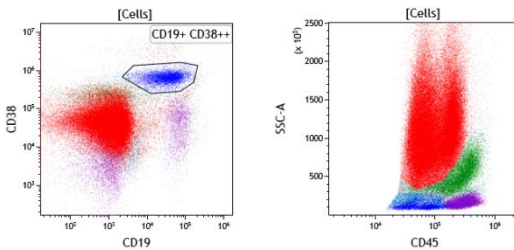
Exemples issus de la routine :

- Réalisé à l'analyse du fichier en utilisant des marqueurs du tube
- **Hématogones** : profil $CD45^{low} SS^{low} CD19^{pos}$ kappa/lambda^{neg} $CD38^{high}$

- ✓ Tubes orientation lymphocytes : $CD45^{low} SS^{low} CD19^{pos}$ kappa/lambda^{neg}



- ✓ Tube LAM MRD ou plasmocytes : $CD45^{low} SS^{low} CD19^{pos} CD38^{high}$



Neutrophiles
Monocytes
Lymphocytes
Blastes
Autres

Référence(s) bibliographique(s)

Holdrinet et al. Exp Hematol. 1980
Bjorklund et al. Leukemia. 2003
Brooimans et al. Cytometry Part B. 2009
Loken et al. Cytometry Part B. 2009
Frébet et al. Cytometry Part B. 2011
Fossat et al. Cytometry Part B. 2015

Fluorochromes / Clones utilisés

CD19 ECD (J3-119) CD38 PC7 (HB7) CD45 KO (J.33) Kappa FITC (polyclonal) Lambda PE (polyclonal)