

# RÉALISATION ET LECTURE DU FROTTIS SANGUIN

**CATHY TRUMEL**

DV, PhD, Dip. ECVCP

ENVT, 23 chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex 3

## OBJECTIFS

Préparer un frottis sanguin de qualité en vue :

- d'apprécier l'organisation (rouleaux et agglutinats d'hématies, agrégats plaquettaires) et la richesse/pauvreté (évaluation semi-quantitative) des différentes populations sanguines
- de réaliser une analyse morphologique qualitative des éléments figurés
- de vérifier ou établir la formule leucocytaire
- d'apprécier les anomalies morphologiques des différentes populations sanguines
- d'identifier des agents infectieux
- de mettre en évidence de cellules néoplasiques
- de confirmer les résultats chiffrés donnés par les analyseurs d'hématologie.

## MATÉRIEL

**SANG :** veineux, prélevé sur tube EDTA (bouchon violet ou rouge) ou CTAD (bouchon bleu et jaune)

### **LAMES DE VERRE**

- une lame porte-objet lavée, dégraissée et rodée industriellement et si possible avec une zone matée permettant l'identification précise du spécimen,
- une lame rodée à bord biseauté de largeur inférieure à celle de la lame porte-objet si possible

**PIPETTE PASTEUR A USAGE UNIQUE ou AUTRE MOYEN PERMETTANT DE DEPOSER UNE GOUTTE DE SANG STANDARDISEE DE PETITE TAILLE** (environ 1 à 2 mm de diamètre)

**COLORANTS :** colorants rapides (kits du commerce) ou May-Grünwald et Giemsa ou autre colorant de type Romanowski

## RÉALISATION DU FROTTIS

**1.** Déposer une goutte de sang de petite taille à l'extrémité de la lame porte-objet

Faire glisser une lame rodée au contact de la goutte de sang en formant un angle d'environ 20 à 30° avec la lame porte-objet

**2.** Laisser le sang se répartir sur toute la largeur de la lame rodée

**3.** Glisser la lame rodée d'un mouvement ferme et régulier ET LENT

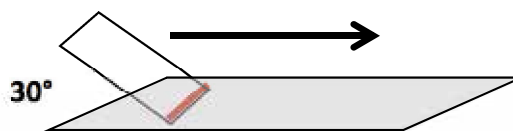
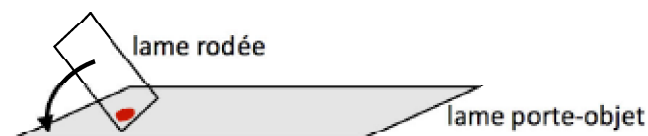
Le frottis doit être contenu en totalité sur la lame ; ses différentes régions (tête, corps et queue) ne doivent pas toucher les extrémités de la lame porte-objet

**4.** Suite à l'étalement, **sécher immédiatement** le frottis par agitation **énergique**

**5.** La vitesse d'étalement et l'angle formé entre la lame rodée et la lame du frottis doivent être modifiés en fonction de l'hématocrite : lors d'anémie sévère, la vitesse d'étalement doit être plus rapide ou l'angle formé plus important afin d'éviter que l'étalement ne sorte pas de la lame ; lors de polyglobulie, la vitesse d'étalement doit être ralentie ou l'angle formé plus petit afin d'éviter que le frottis ne soit pas trop court.

## Artefacts de réalisation

Un frottis mal séché peut faire apparaître des échinocytes, globules rouges (GR) dont la surface apparaît « hérissée » de fines projections ou des torocytes, GR caractérisés par une pâleur centrale très circonscrite évoquant un trou à l'emporte-pièce, ou des cellules cibles, GR caractérisés par une coloration évoquant une cible. Ce changement de morphologie affecte tous les GR d'une zone donnée à la différence d'une poïkilocytose vraie qui ne touche que quelques GR répartis sur l'ensemble de l'étalement.



### **Etalement :**

**Ni trop rapide: frottis court et épais**  
**Ni trop lent: frottis trop long qui déborde de la lame porte-objet**

**Coloration rapide**

Ce type de coloration permet une analyse morphologique des cellules sanguines, souvent suffisante, et a l'énorme avantage d'être simple et rapide d'utilisation.

Les procédures de coloration peuvent varier selon le kit employé ; il est donc nécessaire de respecter les recommandations du fabricant.

**Artefacts de coloration**

Des dépôts de colorants sont communément observés et se déposent notamment à la périphérie des GR ou adhèrent à leur surface. Ces dépôts, de taille hétérogène, apparaissent réfringents en faisant varier la mise au point du microscope et se différencient ainsi de *Mycoplasma haemofelis* ou *M. Haemominutum*. Mais ces différences restent relativement subtiles. Pour les éviter: filtrer les colorants, utiliser de petits flacons (type flacon urinaire) afin de changer régulièrement les solutions, fermer les flacons car le méthanol, rentrant dans leur composition, s'évapore et accélère la formation de ces dépôts.

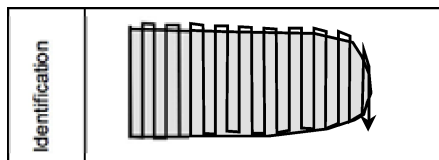
Le frottis est d'abord observé au **faible grossissement** (x100 ou x200 avec des oculaires x10 et des objectifs x10 ou x20). Il est nécessaire de réaliser un balayage de l'ensemble de la lame en réalisant des créneaux serrés en partant de la goutte et en allant jusqu'à l'extrémité de la queue du frottis. Cette étape permet: d'apprécier la répartition des cellules sanguines, de détecter l'éventuelle présence anormale d'agrégats plaquettaire voire leucocytaires, d'apprécier la richesse en leucocytes (normalement plus nombreux sur les bords et en queue de frottis) et d'évaluer la richesse en GR. Le faible grossissement permet également l'observation d'éléments de grande taille (microfilaires, ...).

Le frottis est ensuite examiné au **fort grossissement** (objectif x1000 à immersion) en fin de corps de frottis (schéma ci-dessus). Cette zone est située dans le dernier tiers du frottis lorsque l'hématocrite est normal mais peut être située dans des zones différentes si l'hématocrite est anormal. Pour l'identifier, il suffit de repérer la zone où les GR sont les uns à côté des autres, ne se chevauchent pas, et ne sont pas non plus trop espacés les uns des autres. Cette répartition est idéale pour confirmer la formule leucocytaire et apprécier la morphologie cellulaire.

---

\* DÉCLARATION PUBLIQUE D'INTÉRÊTS SOUS LA RESPONSABILITÉ DU OU DES AUTEURS : **Non communiqué**

**Méthode de lecture du frottis**

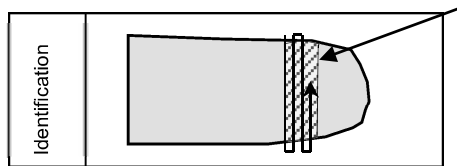


Tête corps queue

Régions d'un frottis sanguin

**Faible grossissement :**

Balayage systématique, en créneaux, d'un bord du frottis à l'autre, sur l'ensemble de la lame en partant de la goutte jusqu'à l'extrémité de la queue du frottis.



Zone d'observation (hachurée) de la morphologie des cellules sanguines au **fort grossissement (x1000)** : l'ensemble des cellules est dispersé de façon homogène, notamment les globules rouges sont équidistants les uns des autres, non chevauchants

En situation de leucopénie, compter par petits créneaux sur les bords du frottis.

Si la leucopénie est sévère, on ne compte pas toujours les cellules mais on regarde quelle(s) population(s) semble(nt) prédominer.