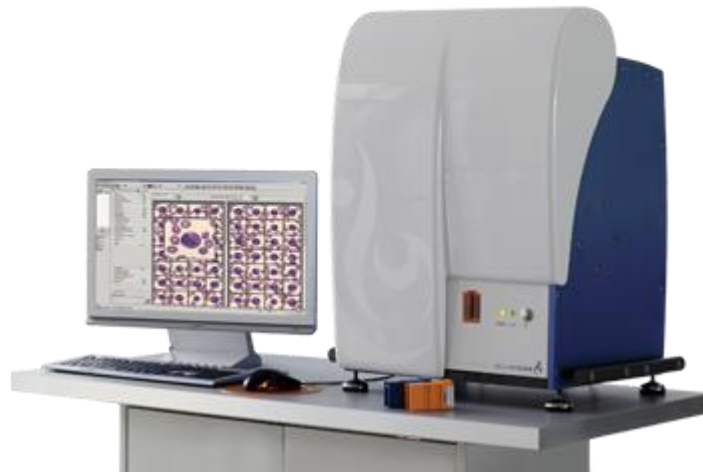


Cellavision DM 1200® : de l'installation à la routine, expérience du CHR Mons-Hainaut



Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

1. Matériel

- **ADVIA 2120**
- **AUTOSLIDE**



Critères de réalisation d'un frottis :

- Left-shift +++
- Blastes > 1,50%
- Granulocytes immatures > 5%
- Non-Red-Blood-Cell +++
- LUC (Large Undetermined Cell) > 5% ou > 400/mm³
- Monocytose > 1800/mm³
- Eosinophiles > 30%
- Basophiles > 30%
- Lymphocytes > 4000/mm³
- Plaquettes < 100.000 ou > 900.000
- Plaquettes géantes > 14 %
- Volume globulaire moyen < 70 microns³ ou > 125 microns³
- Globules blancs totaux < 1000/mm³ ou > 25.000/mm³

Plan

- 1 : matériel
- **2 : première étude de corrélation**
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

1 . première étude de corrélation

- Cellavision (150 cellules) versus ADVIA sur 90 Patients

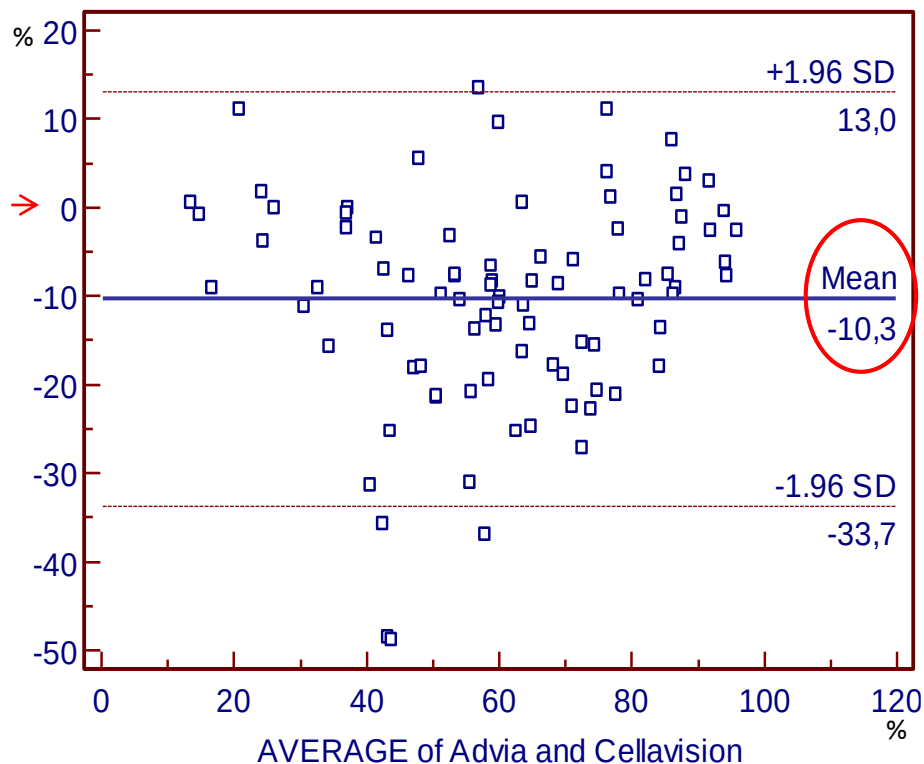
«Bland and Altman»

«Passing and Bablock»

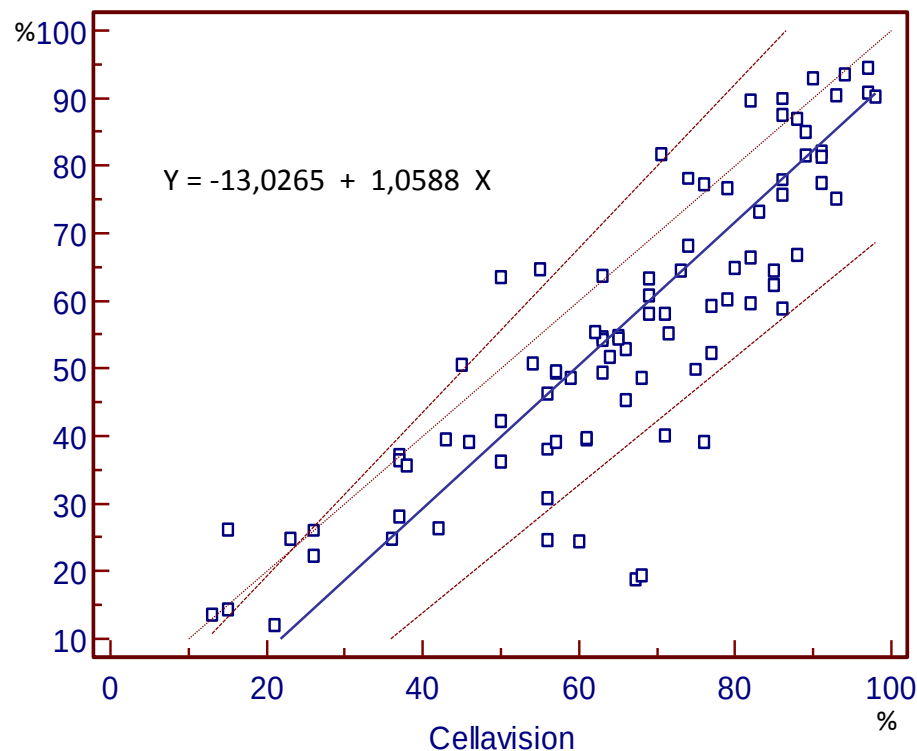
Comparaison formule Cellavision VS ADVIA

NEUTROPHILES

Cellavision VS ADVIA



Cellavision VS ADVIA



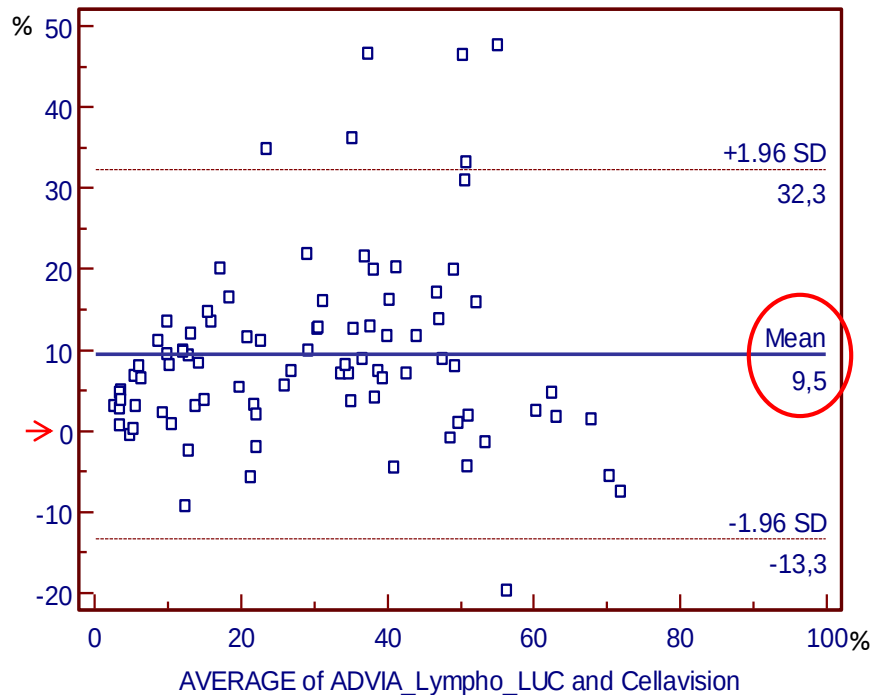
Surestimation de la proportion des neutrophiles par le Cellavision.

Comparaison formule Cellavision VS ADVIA

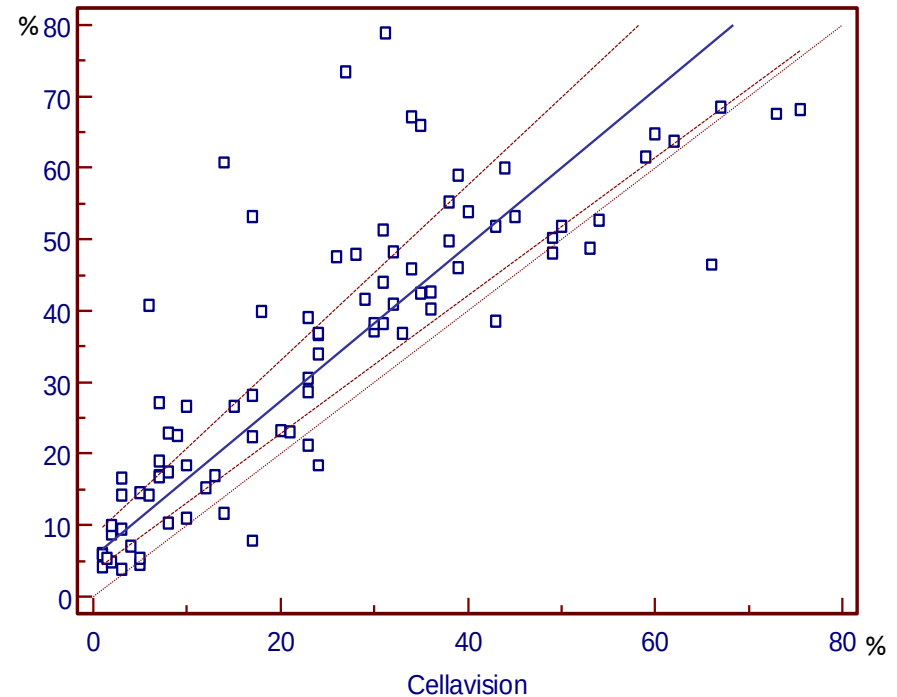
LYMPHOCYTES

Cellavision VS ADVIA

Avec prise en compte des LUC

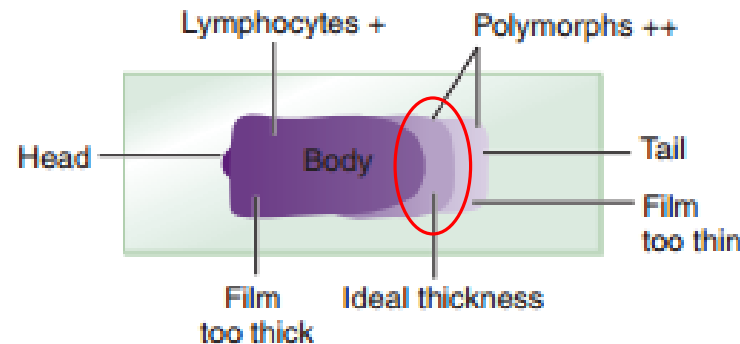


Cellavision VS ADVIA



Sous-estimation de la proportion des lymphocytes par le Cellavision.

Hypothèse



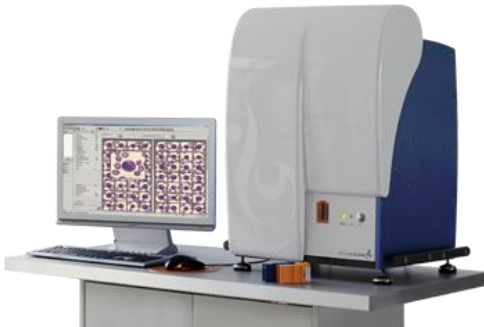
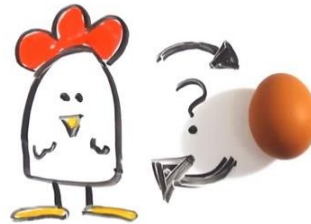
For a reliable differential count on films spread on slides, the film must not be too thin and the tail of the film should be smooth. To achieve this, the film should be made with a rapid movement using a smooth glass spreader. This should result in a film in which there is some overlap of the red cells, diminishing to separation near the tail, and in which the white cells in the body of the film are not too badly shrunk. If the film is too thin or if a rough-edged spreader is used, many of the white cells, perhaps even 50% of them, accumulate at the edges and in the tail (Fig. 3.1). Moreover, a gross qualitative irregularity in distribution is the rule: polymorphonuclear neutrophils and monocytes predominate at the margins and the tail; lymphocytes predominate in the middle of the film (Fig. 3.2). This separation probably depends on differences in stickiness, size and specific gravity of the different types of cells.



Etalements ?



"THE CHICKEN - OR - THE CHICKEN EGG"



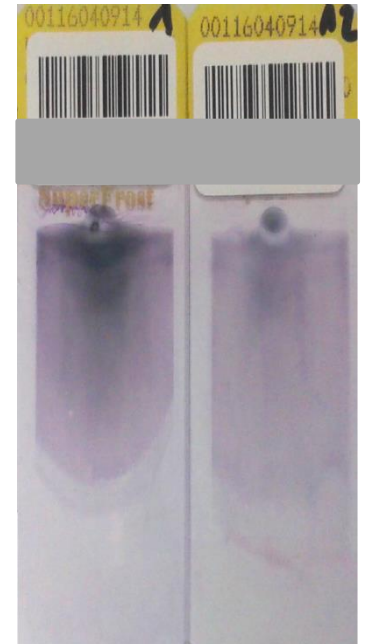
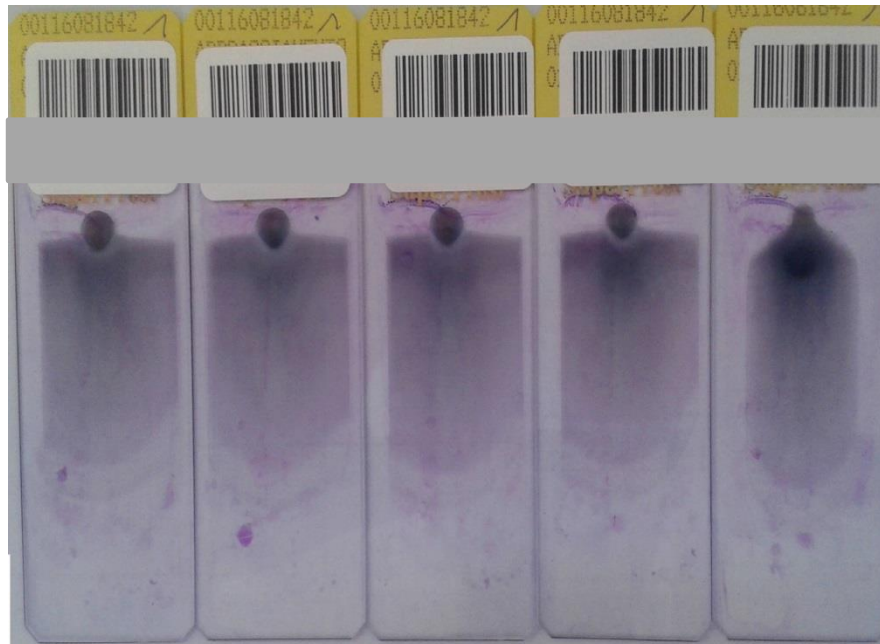
Zone de lecture ?

Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- **3 : changement des Autoslides**
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

3. *changement des Autoslides*

Suite à de nombreuses pannes ainsi qu'à une qualité de frottis insuffisante et variable ...



Plan

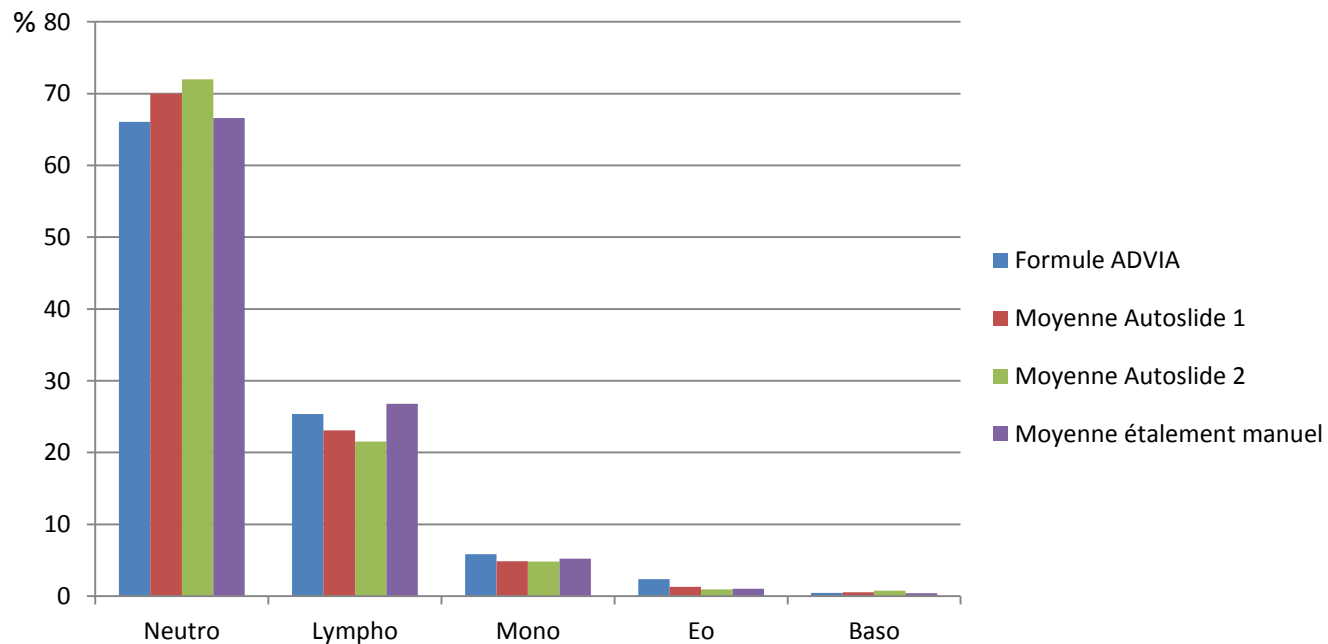
- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- **4 : deuxième étude de corrélation**
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

4. deuxième étude de corrélation

Comparaison des Autoslides

Réalisation de 10 frottis sur chaque Autoslide et manuellement, à partir du même sang , et lecture au Cellavision.

Comparaison des formules en fonction de la technique d'étalement.



4. deuxième étude de corrélation

Etude de corrélation

- Cellavision (150 cellules) versus ADVIA sur 110 patients

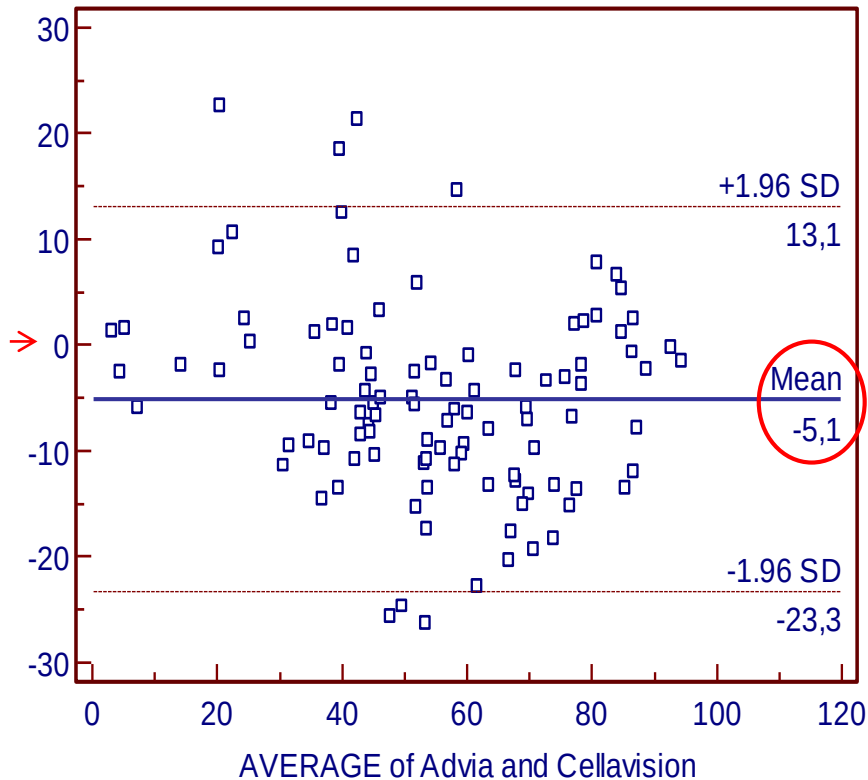
«Bland and Altman»

«Passing and Bablock»

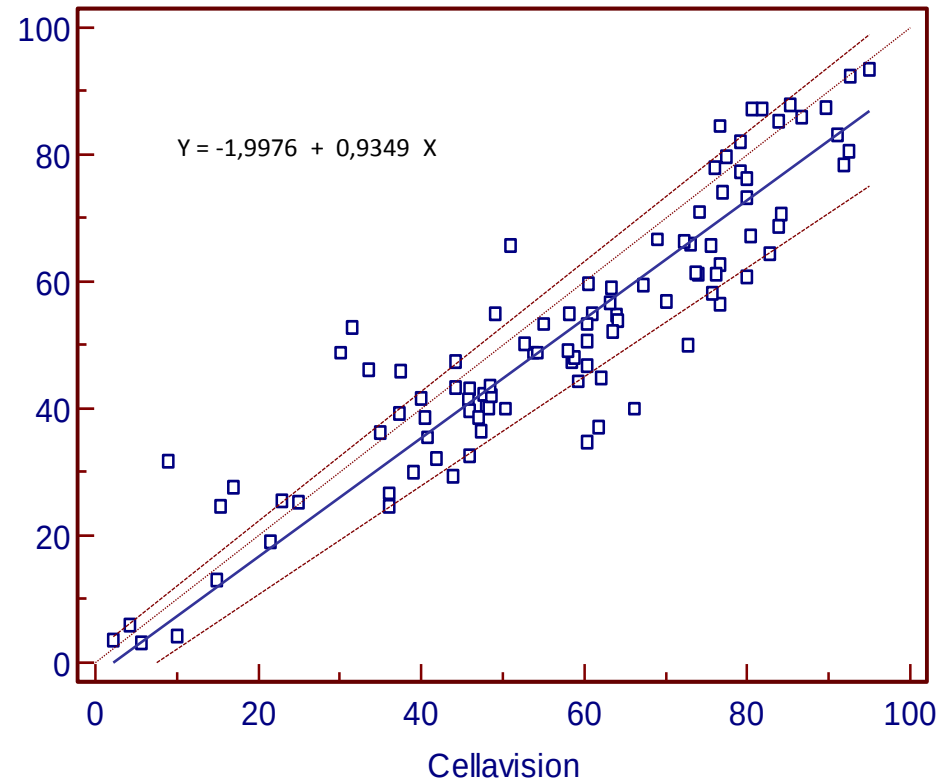
Comparison formule Cellavision / ADVIA

NEUTROPHILES

Cellavision / Advia



Cellavision / Advia

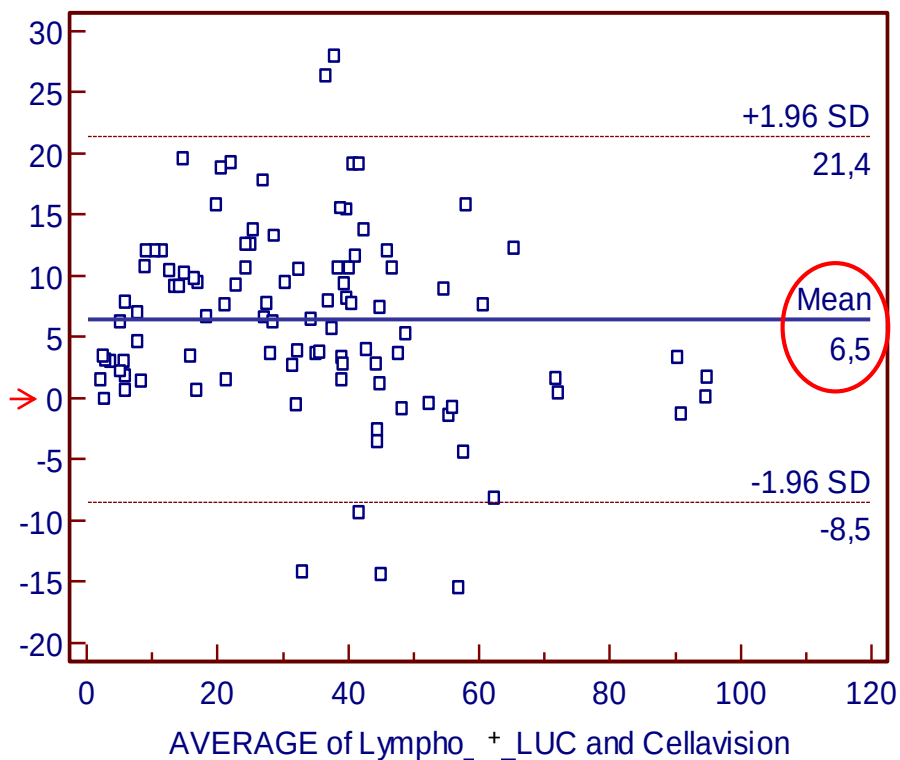


Comparaison formule Cellavision / ADVIA

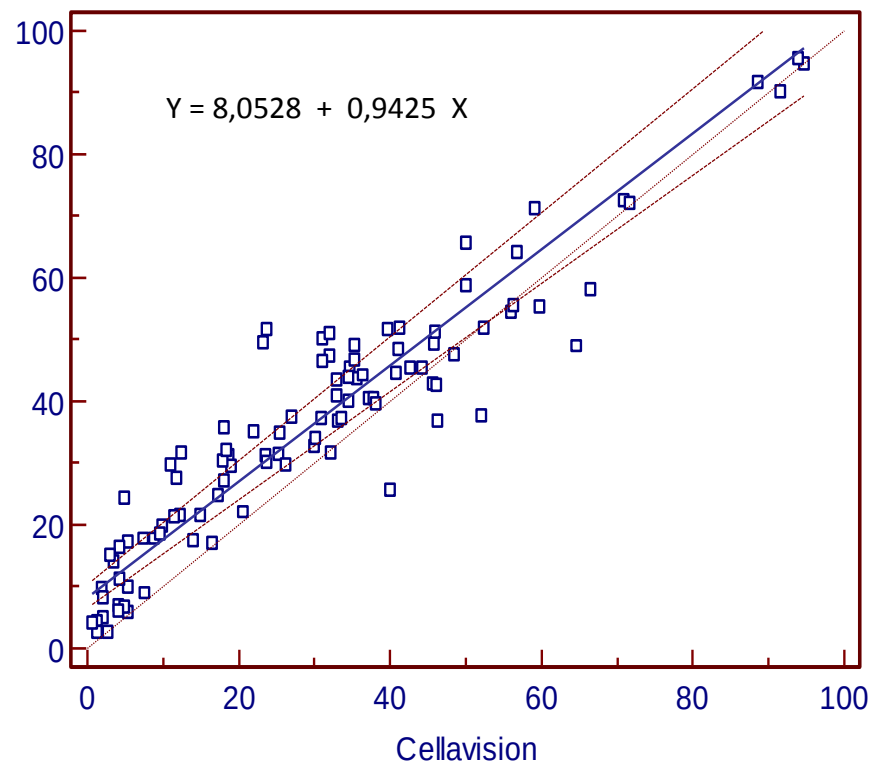
LYMPHOCYTES

Cellavision / Advia

Avec prise en compte des LUC



Cellavision / Advia



Nous constatons une amélioration de la situation,
mais nous gardons un biais systématique de la
formule réalisée par le Cellavision. Celui-ci paraît
acceptable en routine.



... mais, il disparaît lorsque l'étalement est réalisé
manuellement.



Proposition de Siemens de nous envoyer un expert européen
pour régler le couple Autoslide-Cellavision

Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

5. *modification des paramètres d'étalement*

1) Déplacement du point de dépôt de la goutte → + 4mm vers le bord de lame.



→ Pas de changement au niveau du biais systématique observé

5. *modification des paramètres d'étalement*

2) Diminution de l'angle du ruban et application de protocoles différents en fonction de la viscosité du sang (HTC et taux de GB).

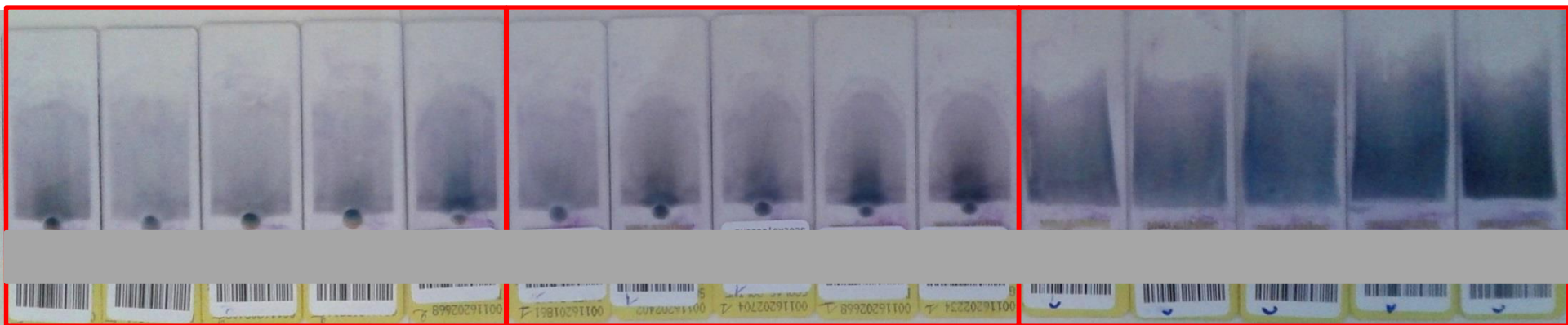


→ Pas de changement au niveau du biais systématique observé

5. modification des paramètres d'étalement

Comparaison des Autoslides

Réalisation de 5 frottis sur chaque Autoslide et 5 frottis manuellement, à partir du même sang , et lecture au Cellavision.



Autoslide modifié

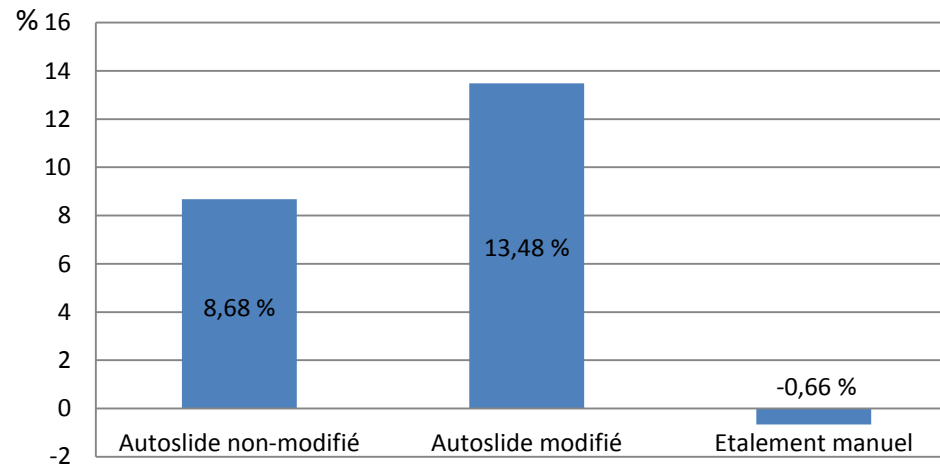
Autoslide non-modifié

Manuel

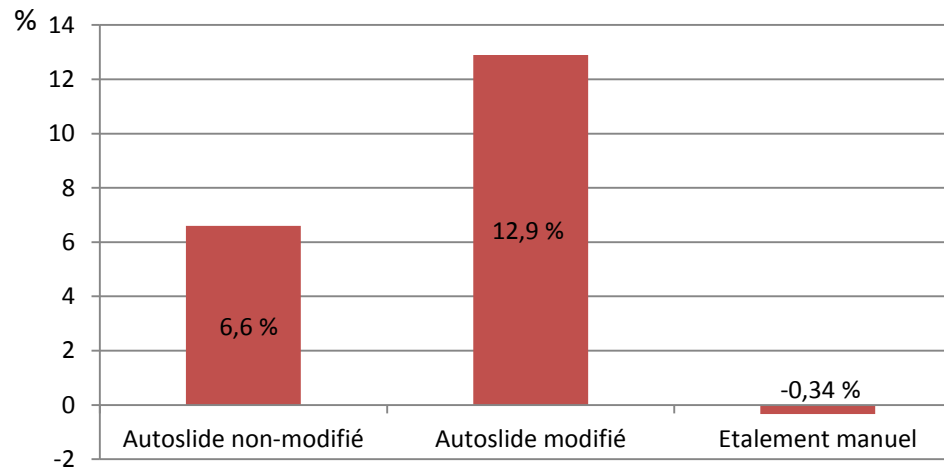
Comparaison des Autoslides

Différence moyenne après lecture au Cellavision par rapport à la formule ADVIA.

Neutrophiles

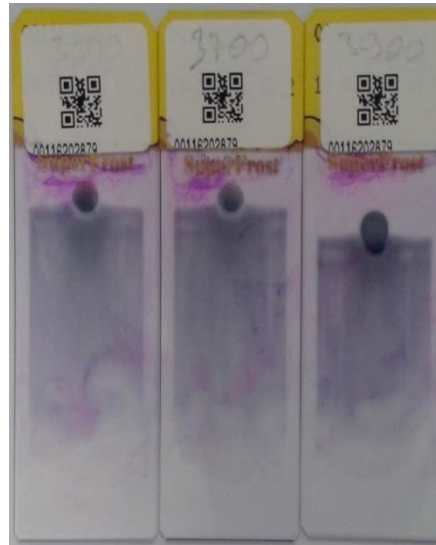


Lymphocytes



5. *modification des paramètres d'étalement*

3) Modification de la vitesse d'étalement



→ Pas de changement au niveau du biais systématique observé

Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- **6 : simulation**
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

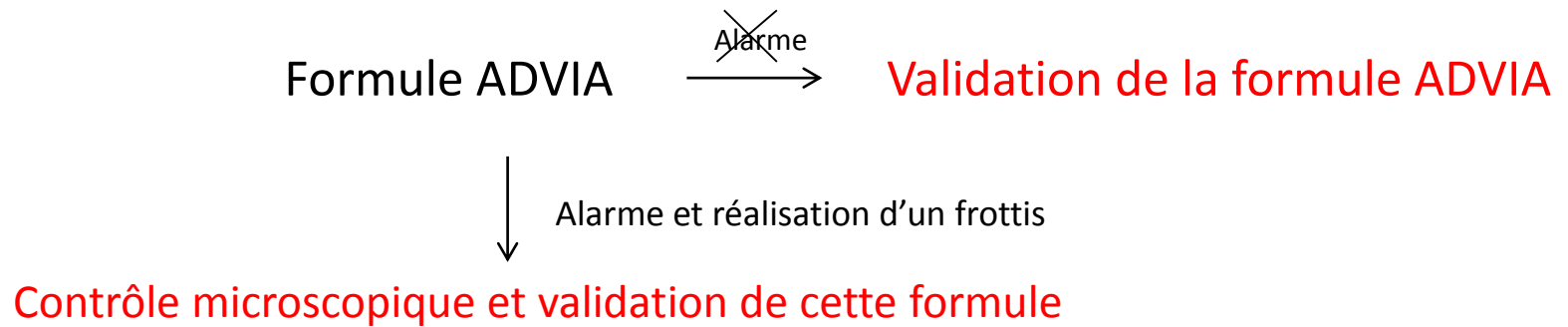
6. *simulation*

Test d'un nouvel algorithme de validation des formules sanguines



Limiter le nombre de formules validées en microscopie

Validation de la formule sanguine



Formule ADVIA  Validation de la formule ADVIA

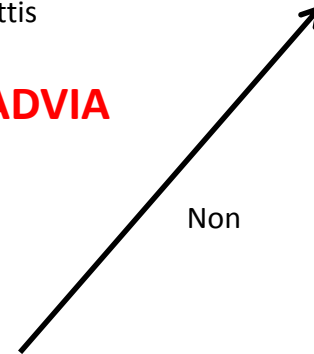


Alarme et réalisation d'un frottis

Lecture Cellavision et analyse des alarmes ADVIA



- > 5% LUC ou 400 / μ l
- Blastos > 2%
- Granulocytes immatures > 5%
- Neutros sans activité peroxydase



Non



Oui

Validation Formule Cellavision ! SAUF SI



- Alarme Cellavision
- Divergence des formules:
 - Voir table de Rumke

Table de Rumke

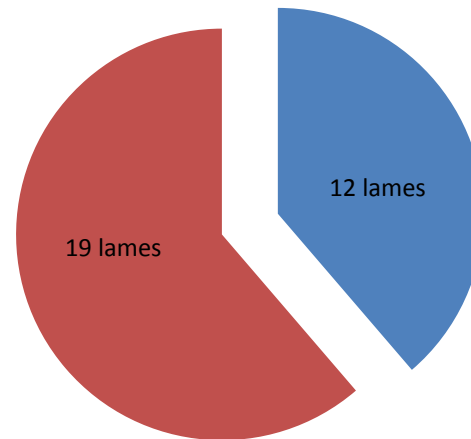
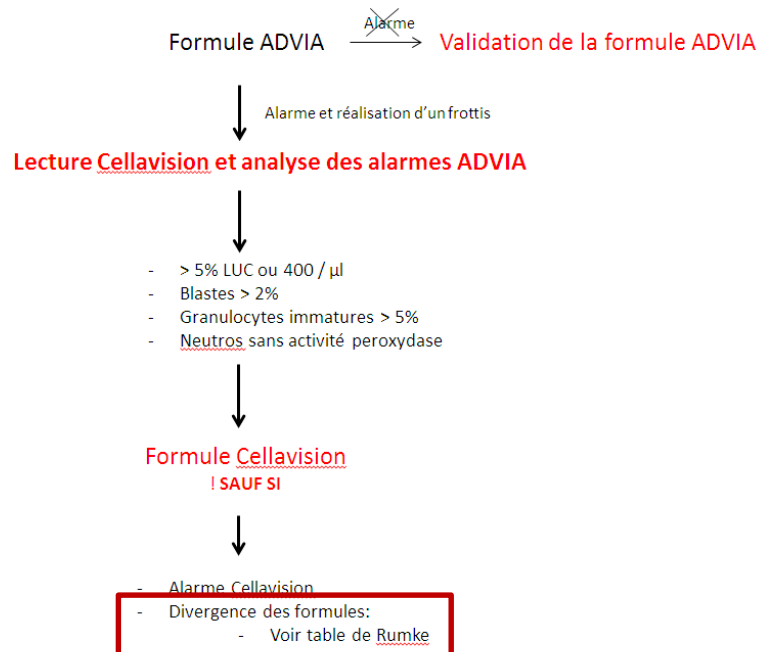
a	n = 100	n = 200	n = 500	n = 1.000	n = 10.000
0	0 - 3.6	0 - 1.8	0 - 0.7	0 - 0.4	0 - 0.1
1	0.0 - 5.4	0.1 - 3.6	0.3 - 2.3	0.5 - 1.8	0.8 - 1.3
2	0.2 - 7.0	0.6 - 5.0	1.0 - 3.6	1.2 - 3.1	1.7 - 2.3
3	0.6 - 8.5	1.1 - 6.4	1.7 - 4.9	2.0 - 1.3	2.6 - 3.4
4	1.1 - 9.9	1.7 - 7.7	2.5 - 6.1	2.9 - 5.4	3.6 - 4.5
5	1.6 - 11.3	2.4 - 9.0	3.3 - 7.3	3.7 - 6.5	4.5 - 5.5
6	2.2 - 12.6	3.1 - 10.2	4.1 - 8.5	4.6 - 7.7	5.5 - 6.5
7	2.9 - 13.9	3.9 - 11.5	4.9 - 9.6	5.5 - 8.8	6.5 - 7.6
8	3.5 - 15.2	4.6 - 12.7	5.8 - 10.7	6.4 - 9.9	7.4 - 8.6
9	4.2 - 16.4	5.4 - 13.9	6.6 - 11.9	7.3 - 10.9	8.4 - 9.6
10	4.9 - 17.6	6.2 - 15.0	7.5 - 13.0	8.2 - 12.0	9.4 - 10.7
15	8.6 - 23.5	10.4 - 20.7	12.0 - 18.4	12.8 - 17.4	14.3 - 15.8
20	12.7 - 29.2	14.7 - 26.2	16.6 - 23.8	17.6 - 22.6	19.2 - 20.8
25	16.9 - 34.7	19.2 - 31.6	21.3 - 29.0	22.3 - 27.8	24.1 - 25.9
30	21.2 - 40.0	23.7 - 36.9	26.0 - 34.2	27.2 - 32.9	29.1 - 31.0
35	25.7 - 45.2	28.4 - 42.0	30.8 - 39.4	32.0 - 38.0	34.0 - 36.0
40	30.3 - 50.3	33.2 - 47.1	35.7 - 44.4	36.9 - 43.1	39.0 - 41.0
45	35.0 - 55.3	38.0 - 52.2	40.6 - 49.5	41.9 - 48.1	44.0 - 46.0
50	39.8 - 60.2	42.9 - 57.1	45.5 - 54.5	46.9 - 53.1	49.0 - 51.0
55	44.7 - 65.0	47.8 - 62.0	50.5 - 59.4	51.9 - 58.1	54.0 - 56.0
60	49.7 - 69.7	52.9 - 66.8	55.6 - 64.3	56.9 - 63.1	59.0 - 61.0
65	54.8 - 74.3	58.0 - 71.6	60.6 - 69.2	62.0 - 68.0	64.0 - 66.0
70	60.0 - 78.8	63.1 - 76.3	65.8 - 74.0	67.1 - 72.8	69.0 - 70.9
75	65.3 - 83.1	68.4 - 80.8	71.0 - 78.7	72.2 - 77.7	74.1 - 75.9
80	70.8 - 87.3	73.8 - 85.3	76.2 - 83.4	77.4 - 82.4	79.2 - 80.8
85	76.5 - 91.4	79.3 - 89.6	81.6 - 88.0	82.6 - 87.2	84.2 - 85.7
90	82.4 - 95.1	85.0 - 93.8	87.0 - 92.5	88.0 - 91.8	89.3 - 90.6
91	83.6 - 95.8	86.1 - 94.6	88.1 - 93.4	89.1 - 92.7	90.4 - 91.6
92	84.8 - 96.5	87.3 - 95.4	89.3 - 94.2	90.1 - 93.6	91.4 - 92.6
93	86.1 - 97.1	88.5 - 96.1	90.4 - 95.1	91.2 - 94.5	92.4 - 93.5
94	87.4 - 97.8	89.8 - 96.9	91.5 - 95.9	92.3 - 95.4	93.5 - 94.5
95	88.7 - 98.4	91.0 - 97.6	92.7 - 96.7	93.5 - 96.3	94.5 - 95.5
96	90.1 - 98.9	92.3 - 98.3	93.9 - 97.5	94.6 - 97.1	95.5 - 96.4
97	91.5 - 99.4	93.6 - 98.9	95.1 - 98.3	95.7 - 98.0	96.6 - 97.4
98	93.0 - 99.8	95.0 - 99.4	96.4 - 99.0	96.9 - 98.8	97.7 - 98.3
99	94.6 - 99.9	96.4 - 99.9	97.7 - 99.7	98.2 - 99.5	98.7 - 99.2
100	96.4 - 100	98.2 - 100	99.3 - 100	99.6 - 100	99.9 - 100

Table de Rumke

a	n = 100	n = 200	n = 500	n = 1.000	n = 10.000
0	0 - 3.6	0 - 1.8	0 - 0.7	0 - 0.4	0 - 0.1
1	0.0 - 5.4	0.1 - 3.6	0.3 - 2.3	0.5 - 1.8	0.8 - 1.3
2	0.2 - 7.0	0.6 - 5.0	1.0 - 3.6	1.2 - 3.1	1.7 - 2.3
3	0.6 - 8.5	1.1 - 6.4	1.7 - 4.9	2.0 - 1.3	2.6 - 3.4
4	1.1 - 9.9	1.7 - 7.7	2.5 - 6.1	2.9 - 5.4	3.6 - 4.5
5	1.6 - 11.3	2.4 - 9.0	3.3 - 7.3	3.7 - 6.5	4.5 - 5.5
6	2.2 - 12.6	3.1 - 10.2	4.1 - 8.5	4.6 - 7.7	5.5 - 6.5
7	2.9 - 13.9	3.9 - 11.5	4.9 - 9.6	5.5 - 8.8	6.5 - 7.6
8	3.5 - 15.2	4.6 - 12.7	5.8 - 10.7	6.4 - 9.9	7.4 - 8.6
10	4.9 - 17.6		6.2 - 15.0		7.5 - 13.0
15	8.6 - 23.5	10.4 - 20.7	12.0 - 18.4	12.8 - 17.4	14.3 - 15.8
20	12.7 - 29.2	14.7 - 26.2	16.6 - 23.8	17.6 - 22.6	19.2 - 20.8
25	16.9 - 34.7	19.2 - 31.6	21.3 - 29.0	22.3 - 27.8	24.1 - 25.9
30	21.2 - 40.0	23.7 - 36.9	26.0 - 34.2	27.2 - 32.9	29.1 - 31.0
35	25.7 - 45.2	28.4 - 42.0	30.8 - 39.4	32.0 - 38.0	34.0 - 36.0
40	30.3 - 50.3	33.2 - 47.1	35.7 - 44.4	36.9 - 43.1	39.0 - 41.0
45	35.0 - 55.3	38.0 - 52.2	40.6 - 49.5	41.9 - 48.1	44.0 - 46.0
50	39.8 - 60.2		42.9 - 57.1		45.5 - 54.5
60	49.7 - 69.7	52.9 - 66.8	55.6 - 64.3	56.9 - 63.1	59.0 - 61.0
65	54.8 - 74.3	58.0 - 71.6	60.6 - 69.2	62.0 - 68.0	64.0 - 66.0
70	60.0 - 78.8	63.1 - 76.3	65.8 - 74.0	67.1 - 72.8	69.0 - 70.9
75	65.3 - 83.1	68.4 - 80.8	71.0 - 78.7	72.2 - 77.7	74.1 - 75.9
80	70.8 - 87.3	73.8 - 85.3	76.2 - 83.4	77.4 - 82.4	79.2 - 80.8
90	82.4 - 95.1		85.0 - 93.8		87.0 - 92.5
91	83.6 - 95.8	86.1 - 94.6	88.1 - 93.4	89.1 - 92.7	90.4 - 91.6
92	84.8 - 96.5	87.3 - 95.4	89.3 - 94.2	90.1 - 93.6	91.4 - 92.6
93	86.1 - 97.1	88.5 - 96.1	90.4 - 95.1	91.2 - 94.5	92.4 - 93.5
94	87.4 - 97.8	89.8 - 96.9	91.5 - 95.9	92.3 - 95.4	93.5 - 94.5
95	88.7 - 98.4	91.0 - 97.6	92.7 - 96.7	93.5 - 96.3	94.5 - 95.5
96	90.1 - 98.9	92.3 - 98.3	93.9 - 97.5	94.6 - 97.1	95.5 - 96.4
97	91.5 - 99.4	93.6 - 98.9	95.1 - 98.3	95.7 - 98.0	96.6 - 97.4
98	93.0 - 99.8	95.0 - 99.4	96.4 - 99.0	96.9 - 98.8	97.7 - 98.3
99	94.6 - 99.9	96.4 - 99.9	97.7 - 99.7	98.2 - 99.5	98.7 - 99.2
100	96.4 - 100	98.2 - 100	99.3 - 100	99.6 - 100	99.9 - 100

6. simulation

Test sur 31 frottis



Revues pour divergence des formules

Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- **7 : observations**
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

7. observations



Autoslide

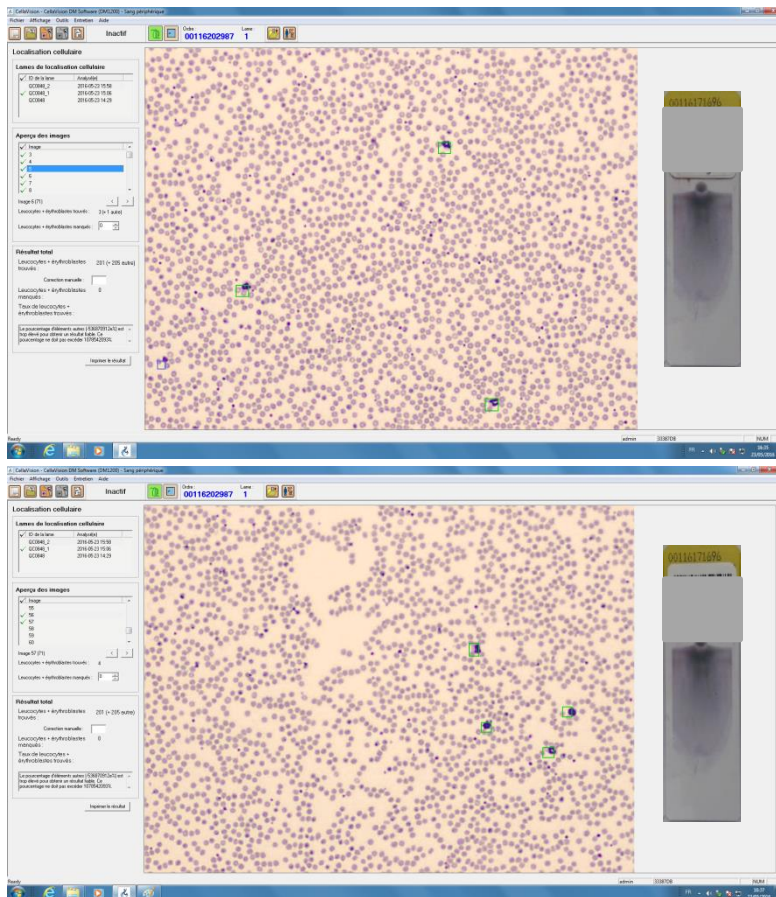
Etalement manuel

- Plus (trop) épais
- Epaisseur homogène sur la largeur du frottis
- Transition nette

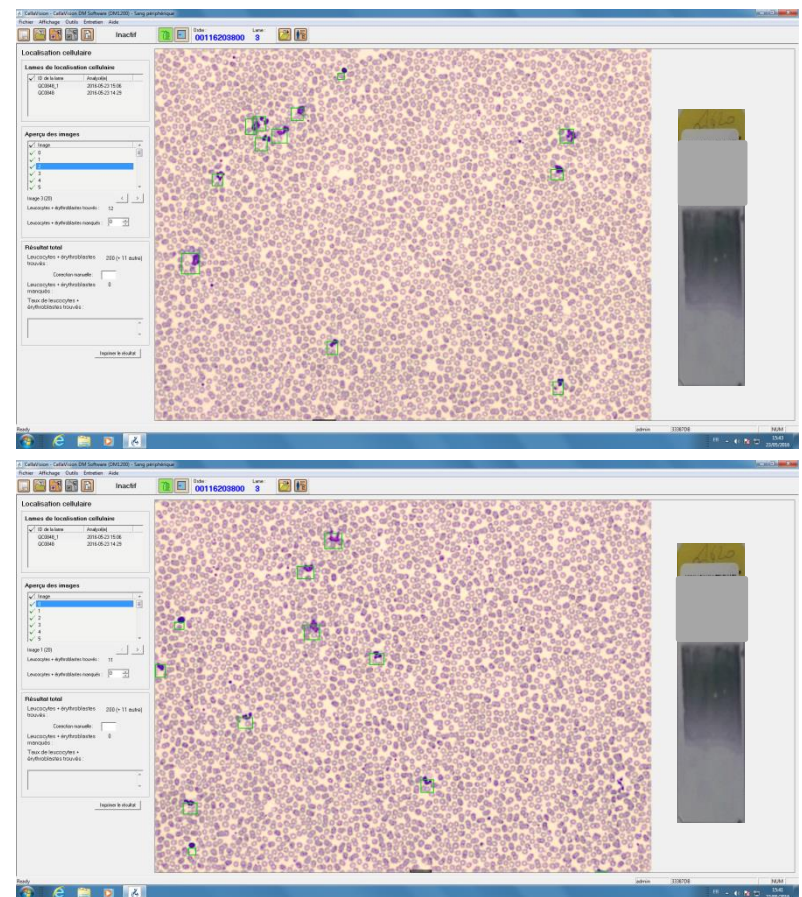
7. observations

Identification cellulaire (Cell Location Test QC)

AUTOSLIDE



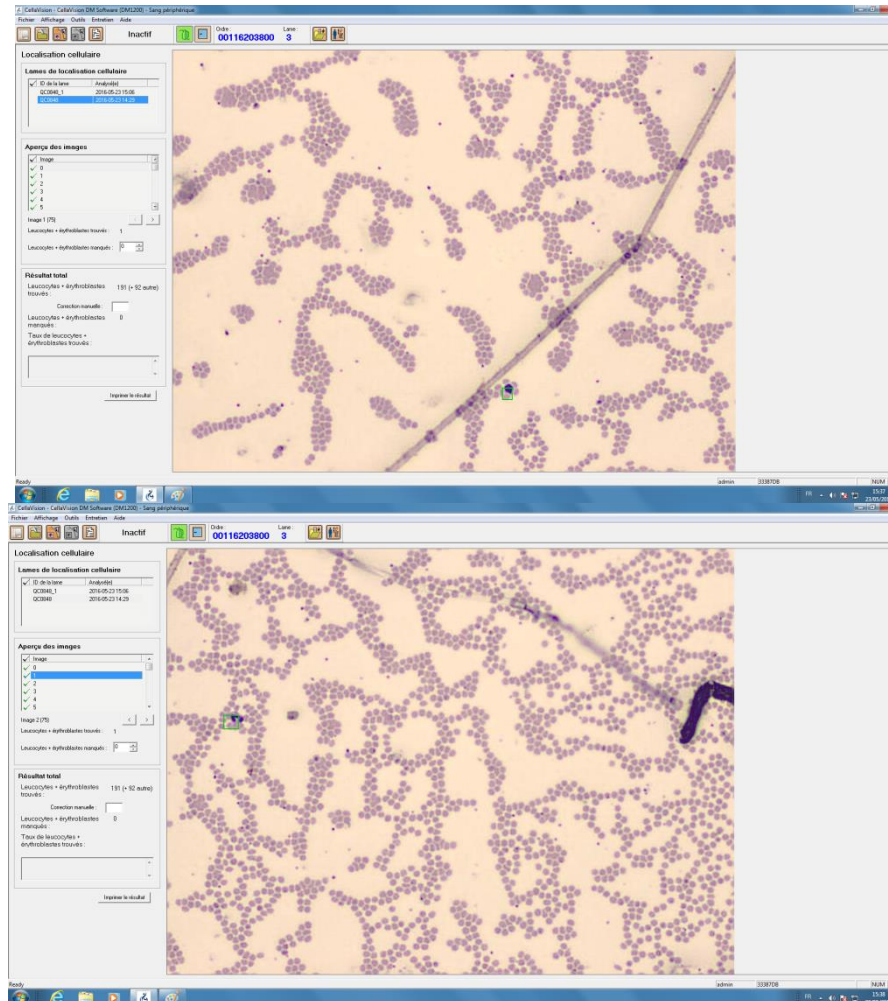
ETALEMENT MANUEL



7. observations

Identification cellulaire (Cell Location Test QC)

AUTOSLIDE



7. observations

Effacement de la fin du frottis



BUT : forcer le Cellavision a réaliser sa formule dans une zone plus dense et faire la corrélation avec la première lecture → ECHEC de lecture des lames

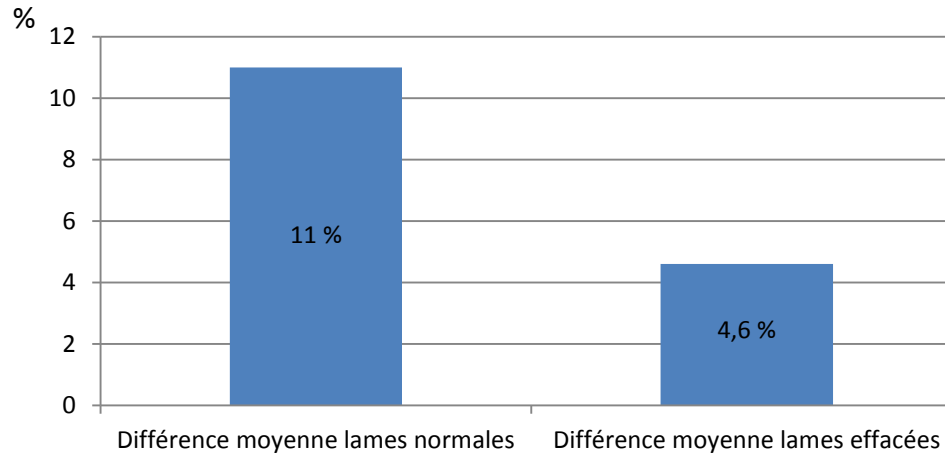
7. observations



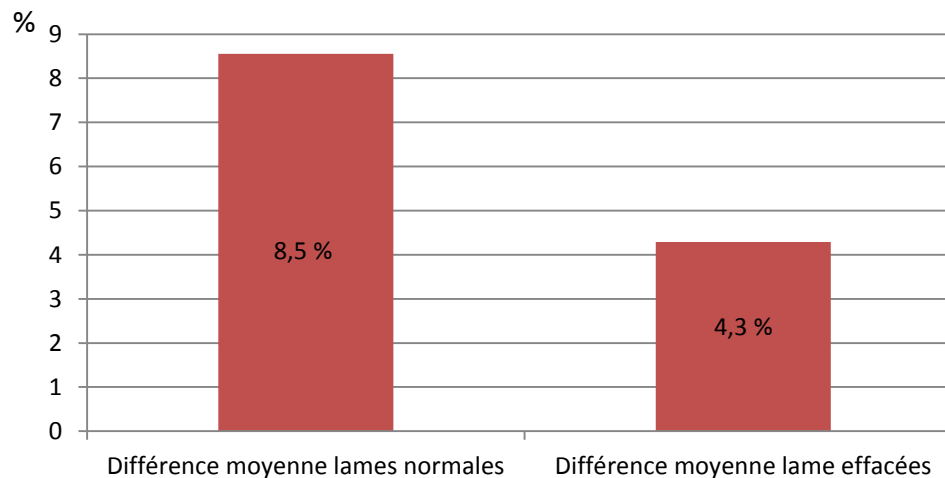
7. observations

Différence moyenne après lecture au Cellavision des lames « effacées » par rapport à la formule ADVIA.

Neutrophiles



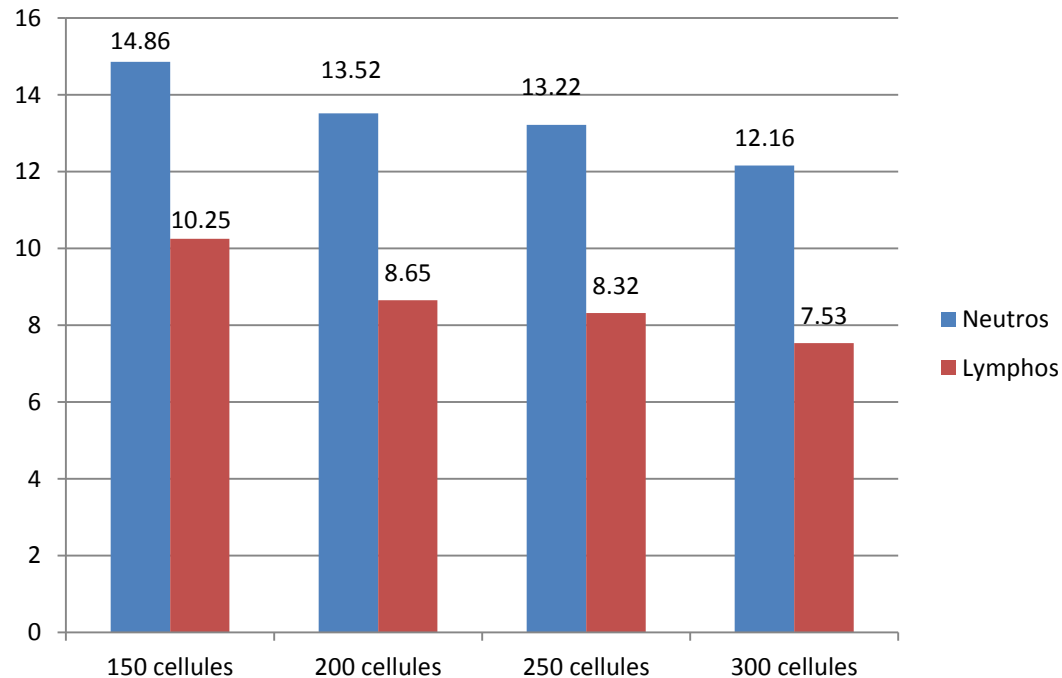
Lymphocytes



7. observations

Modification du nombre de leucocytes comptés par le Cellavision

Différences moyennes de la formule Cellavision par rapport à la formule ADVIA



Plan

- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion

8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision



8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

1. Lecture en microscopie manuelle
2. « Cell Location Test (QC) »
3. « Cellavision Smear Checker »
4. Lecture des lames par le Cellavision

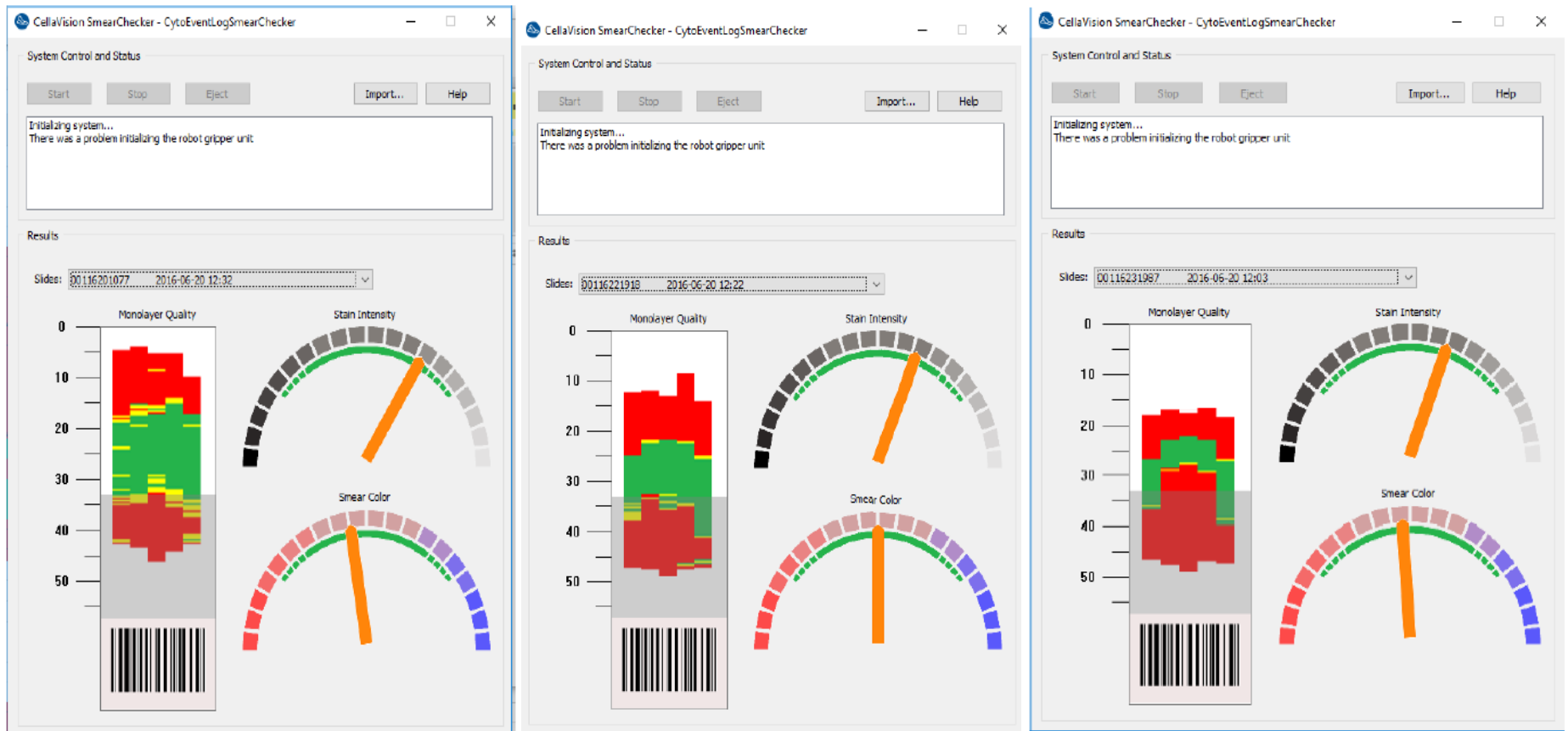
8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

« Cell Location Test (QC) »

- Vérification du processus de préparation des lames et du disque dur du système
- Détermine le pourcentage de cellules nucléées trouvées sur la lame
- Si le système ne peut pas localiser un minimum de 100 cellules nucléées, le résultat n'est pas valable. De plus, le pourcentage de cellules anucléées ne doit pas dépasser 30 % du nombre total d'objet.

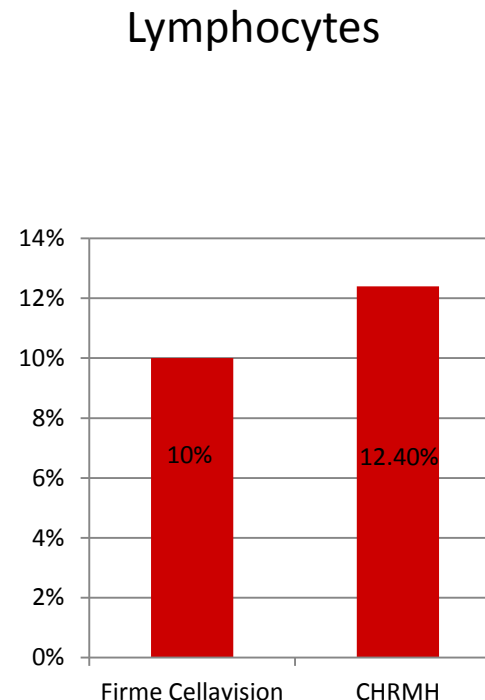
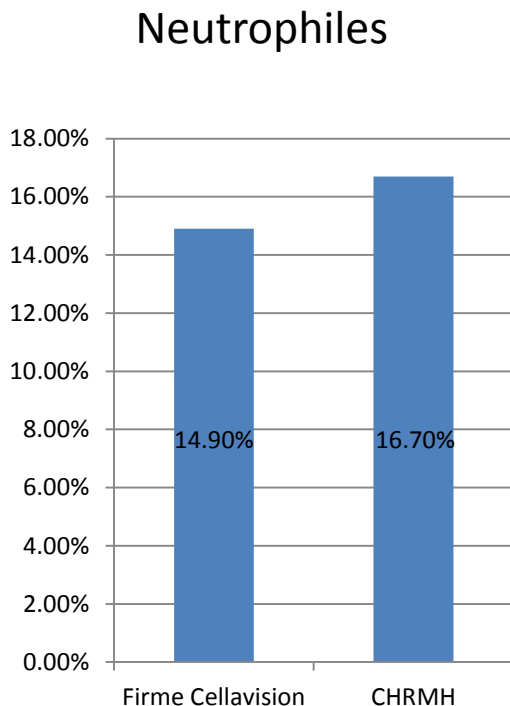
8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

« Cellavision Smear Checker »



8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

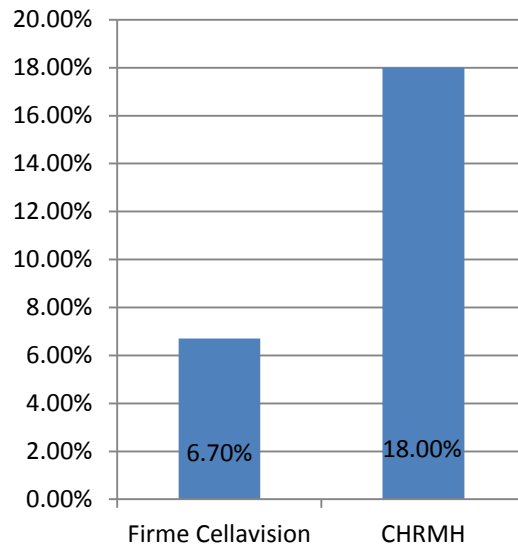
Différences moyennes Cellavision VS ADVIA



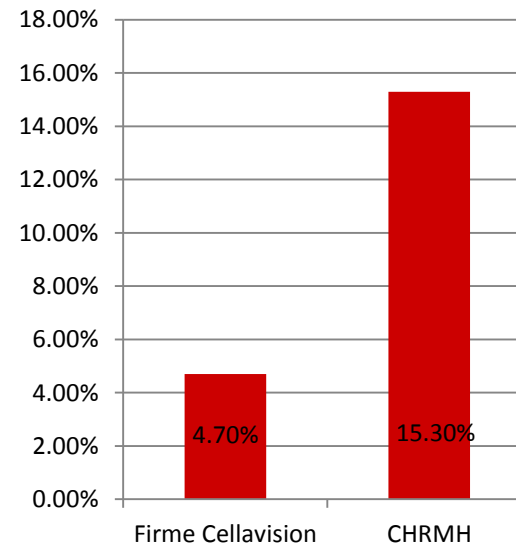
8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

Différences moyennes Cellavision VS formule manuelle

Neutrophiles



Lymphocytes



8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

3.1 Manual Microscopy

During manual review of the slides it was clear that the smears are uneven in terms of monolayer thickness. It was also noticed that the result for manual microscopy performed by the CellaVision Experts differ substantially from the corresponding manual result performed by Siemens customer. This is probably an effect from that the smear is uneven and it is apparent that the uneven distribution also affects the manual method.

- **Les frottis sont irréguliers en terme d'épaisseur de la monocouche.**
- **Les résultats des formules réalisées en microscopie manuelle par les experts de Cellavision diffèrent de façon significative avec celles réalisées par le laboratoire du CHR Mons-Hainaut.**
- **Cette différence est probablement liée à la distribution hétérogène de l'épaisseur des frottis.**

8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

3.2 Cell Location Test

It was clearly seen when running the Cell Location Test that the slides had an uneven RBC monolayer. On some of the slides, the distribution of the WBCs was uneven. For example, on slide 116231677, some overview images contain no WBC+NRBCs but on other overview images up to 15 WBC+NRBCs were found. Some of the slides also contained stain artefacts and the staining was uneven. The slides looked pale on some overview images and darker on other overview images on the same slide. From these results it was apparent that the WBCs were unevenly distributed in some samples.

- **Distribution irrégulière de la monocouche de globules rouges.**
- **Distribution irrégulière des globules blancs sur certains frottis.**
- **Exemple (16231677): certaines images ne contiennent pas de globules blancs alors que certaines en contiennent 15.**
- **Distribution irrégulière de la coloration.**
- **10 lames sur 11 sont considérées comme « OK ».**

8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

3.3 CellaVision SmearChecker

The runs from the SmearChecker indicated that:

Monolayer Quality: The Monolayer area and quality differed between slides.

Stain Intensity: The SmearChecker showed that the smears had a consistent Stain Intensity.

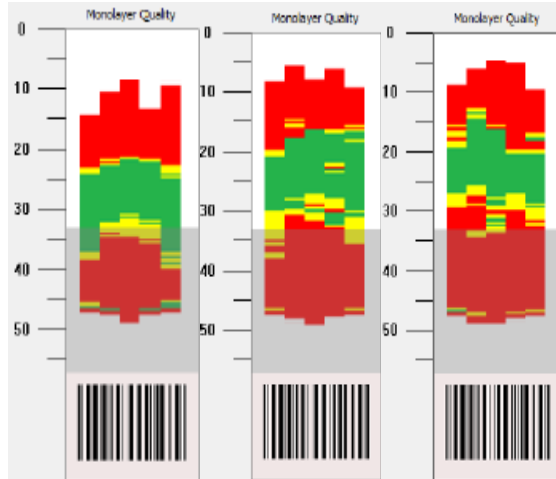
Smear color: The smear color was consistent on all slides.

The overall result from the CellaVision SmearChecker shows a high variation between the slides. This could also be seen by looking at the smears macroscopically, see photographs in Appendix C.

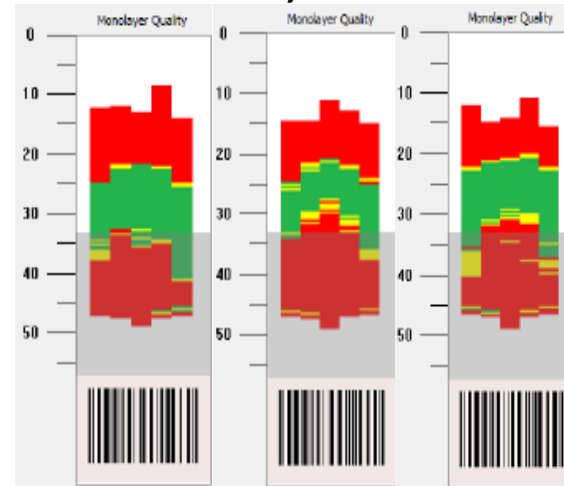
- **La monocouche varie entre les frottis en terme de localisation et de qualité.**
- **Bonne coloration en terme d'intensité et de couleurs.**
- **Qualité très variable de la monocouche.**
- **3 lames sur 11 sont considérées comme « OK ».**
- **3 lames sur 11 sont considérées comme « OK at risk ».**

8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

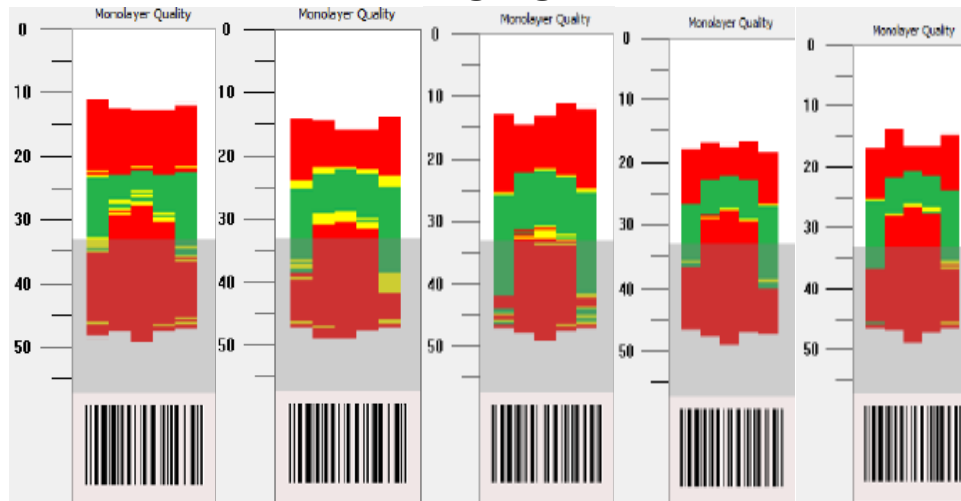
«OK »



«OK, at risk »



« NOT OK »



8. analyse d'une série de lames par la firme Cellavision

4 Conclusion

It was shown by several evaluation methods that the problem was mainly due to poor smear quality. The investigation shows that there is a need for an improvement of the instructions for the CellaVision tool to assess smear quality, the CellaVision SmearChecker. The instructions should be improved in order to better assist customers in their smear preparation. In the long term CellaVision will update the User's Manual with a clarification concerning cell distribution in the Cell Location Test.

- **Plusieurs méthodes d'évaluation ont mis en évidence le fait que le problème était principalement dû à la mauvaise qualité des frottis**
- **Il y a une nécessité d'améliorer les critères de qualité dans les outils d'évaluation des lames comme le Smear Checker**
- **Il y a une nécessité d'améliorer les instructions fournies aux clients de Cellavision concernant la préparation de leur frottis**
- **Sur le long terme, Cellavision va mettre à jour le manuel d'utilisateur avec des clarifications concernant la distribution cellulaire dans le « Cell Location Test »**

Plan

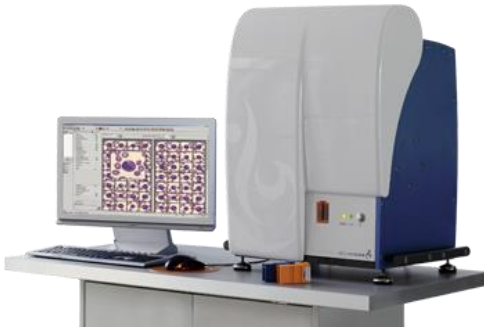
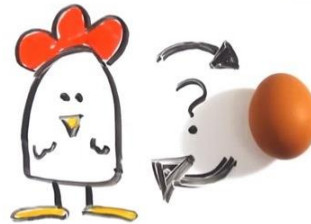
- 1 : matériel
- 2 : première étude de corrélation
- 3 : changement des Autoslides
- 4 : deuxième étude de corrélation
- 5 : modification des paramètres d'étalement
- 6 : simulation
- 7 : observations
- 8 : analyse d'un échantillon de lames par la firme Cellavision
- 9 : conclusion



Etalements ?



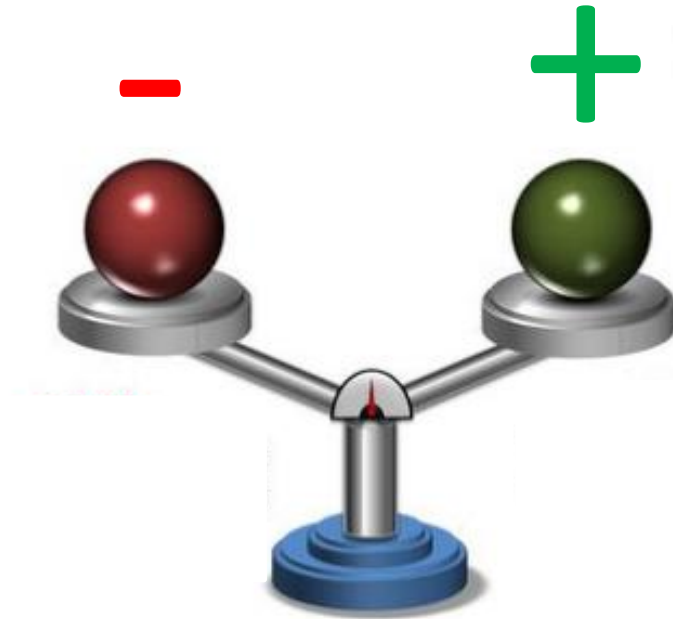
"THE CHICKEN - OR - THE CHICKEN EGG"



Zone de lecture ?

9. conclusion

- Aspects quantitatifs



- Aspects qualitatifs
- Variabilité inter-individuelle
- Traçabilité
- Education

Remerciements

... à **Marie-France** et **Maryline** pour leur coopération ainsi qu'à
Mr Dupret pour sa supervision.

