

# SEED Hématologie



## Reconnaissance des profils particuliers et des résultats erronés dans la numération sanguine automatisée

### Interférences causées par des variants instables de l'hémoglobine

L'objectif de cette série d'articles SEED est de présenter les potentielles causes profondes de certains profils spéciaux bien caractérisés qui donnent lieu à des résultats erronés sur les analyseurs d'hématologie Sysmex, d'expliquer quels paramètres à reporter peuvent être affectés et de mettre en évidence les aspects des scattergrammes et de l'alarmage qui peuvent aider à l'identification rapide de ces profils. Cet article se concentre sur l'impact que les variants instables de l'hémoglobine ont sur le scattergramme WDF, qui a été largement décrit dans la littérature.

#### Les variants instables de l'hémoglobine

Plus de 1200 variants d'hémoglobine ont été identifiés [1, 2], dont beaucoup sont traduits en une protéine moins soluble qui a tendance à précipiter dans les globules rouges (par exemple sous forme de corps de Heinz). Ces variants rares semblent avoir des effets cliniques divers, allant d'une anémie hémolytique asymptomatique à une anémie hémolytique sévère [1-4]. Bien que tous les

variants décrits soient liés à des mutations génétiques différentes du gène de l'hémoglobine  $\beta$ -globine (gène HBB), ils présentent tous le même profil lorsque des échantillons de patients porteurs d'un variant de l'hémoglobine sont mesurés à l'aide du canal WDF.

#### Détection des variants instables de l'hémoglobine sur les analyseurs Sysmex

Bien qu'il existe des rapports de cas et des études sur des échantillons présentant des variants instables de l'hémoglobine sur différents modèles d'analyseurs [1-7], le dénominateur commun est la classification incorrecte des globules blancs (WBC) sur le canal WDF en raison de signaux de fluorescence latéraux (SFL) très faibles.

On suppose que les variants instables de l'hémoglobine qui sont libérés dans l'échantillon lors de la lyse des globules rouges par le réactif de lyse interfèrent avec la liaison du réactif de fluorescence aux acides nucléiques des globules blancs. Cela peut être lié à une plus grande affinité du

marqueur de fluorescence pour l'hémoglobine instable, ce qui empêcherait une interaction efficace avec les acides nucléiques des globules blancs. Une autre hypothèse est celle d'une perméabilité réduite de la membrane cellulaire des leucocytes, due à la présence des variants d'hémoglobine, qui entraînerait une disponibilité réduite du réactif de fluorescence dans les cellules et donc un signal SFL plus faible [1, 2, 5-7].

#### Liste des variants d'hémoglobine décrits dans la littérature comme présentant des interférences sur les analyseurs d'hématologie Sysmex

- Hb Indianapolis [1]
- Hb Himeji [1]
- Hb Köln [1, 4]
- Hb Hazebrouck [2]
- Hémoglobine de Mozhaïsk [3]
- Hb Bruxelles [4]
- Hb Omlteld [4]
- Hb Baille [4]
- Hb Genève [4]
- Hb Hana [4]
- Hb Leiden [5, 7]
- Hb M Dothan [6]

### Profils typiques de scattergrammes et messages d'alarme

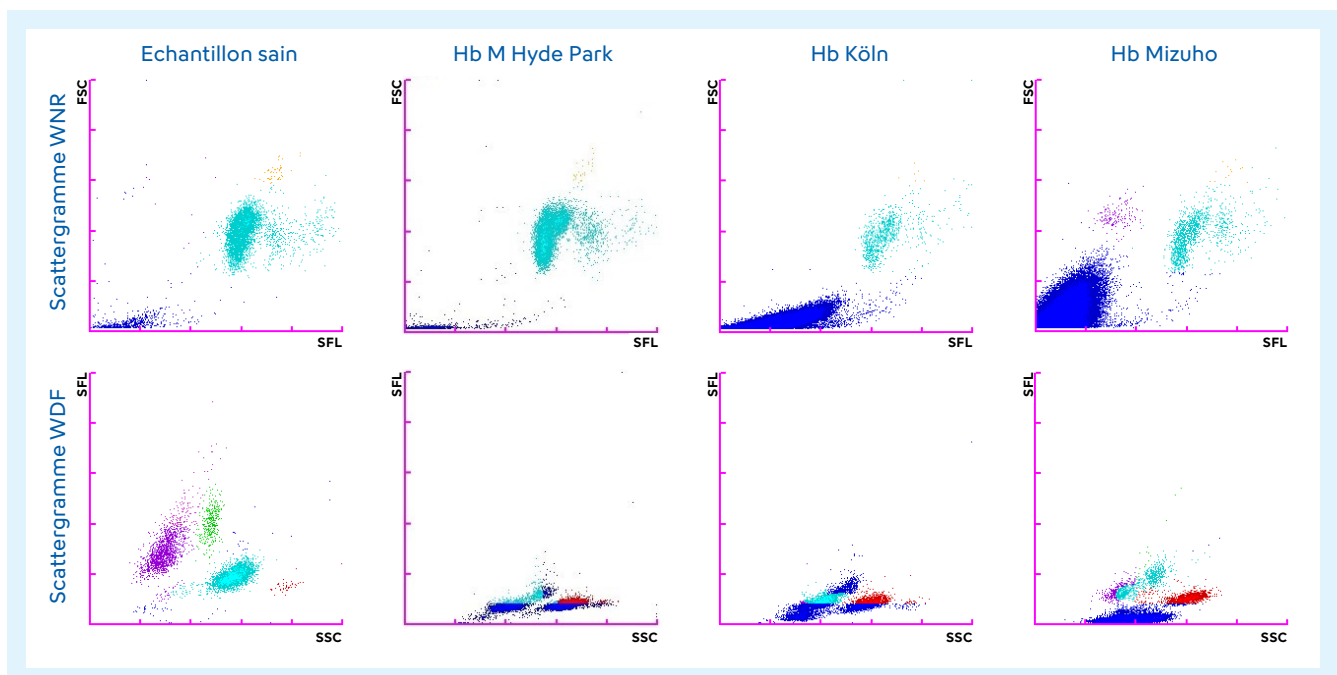
La présence de variants instables de l'hémoglobine dans un échantillon de sang peut être facilement détectée dans

le scattergramme WDF, car les leucocytes présentent un signal SFL très faible et sont projetés en bas du scattergramme (Fig. 1). Dans tous les rapports de cas de variants instables de l'hémoglobine décrits sur les analyseurs Sysmex, il a été constaté que des messages d'alarme pertinents, tels que l'alarme "WBC Abn Scattergram", ont été déclenchés pour alerter l'utilisateur du profil anormal observé [2-4, 7].

Bien que le canal WNR se base également sur les principes de la fluorocytométrie en flux, aucun profil de scattergramme particulier en lien avec les variants instables de l'hémoglobine n'a été rapporté, probablement en raison des différents réactifs utilisés dans ce canal. Comme le montre la figure 1, certains exemples présentent un nuage de débris plus important dans le scattergramme WNR, qui pourrait être en lien avec l'hémoglobine précipitée, mais cela n'a pas d'impact sur la formule ni sur la numération leucocytaire, des NRBC ou des basophiles.

### Amélioration du flux de travail

Comme de nombreuses études décrivent un profil de scattergramme atypique qui peut facilement indiquer la présence d'un variant d'hémoglobine [1-7], des équipes se sont intéressées à la réalisation d'autres études qui permettraient d'identifier rapidement ces variants instables de l'hémoglobine et d'améliorer le flux de travail du laboratoire. Dans l'une de ces études [4], les auteurs ont examiné plusieurs patients présentant différents variants instables de l'hémoglobine et ont rapporté que les paramètres de



**Fig. 1** Les variants instables de l'hémoglobine créent un profil particulier sur le scattergramme WDF, en raison de la potentielle interférence avec les réactifs de lyse ou de fluorescence dans le canal WDF. En conséquence, les sous-populations leucocytaires présentent une faible lumière fluorescente latérale (SFL) et toutes les populations cellulaires apparaissent en bas du scattergramme. Le canal WNR est moins affecté et présente une zone de débris étendue. Dans tous les cas présentés, l'alarme "WBC Abn Scattergram" a été déclenchée.

fluorescence des lymphocytes (LY-SFL ; équivalent à LY-Y) et des neutrophiles (NE-SFL) présentaient une excellente sensibilité et spécificité, ce qui leur a permis de classer correctement 100 % des patients présentant un variant instable de l'hémoglobine dans leur cohorte d'étude.

## Conclusion

- Les cas de variants instables de l'hémoglobine présentent un profil particulier sur le scattergramme WDF.
- Des alarmes pertinentes associées à ce profil particulier peuvent alerter efficacement l'utilisateur sur la nécessité d'un examen plus approfondi.
- Comme le montre une étude, l'analyse des paramètres LY-SFL (LY-Y) et NE-SFL pourrait faciliter l'identification des variants instables de l'hémoglobine et améliorer le flux de travail du laboratoire.

## Références

- [1] **Teixeira C et al. (2017):** Automated detection of unstable hemoglobin variants by Sysmex XE-Series analyzers. Clin Chem Lab Med; 55(11): e243-e246.
- [2] **Adam AS et al. (2022):** Rare unstable and low oxygen affinity haemoglobin variant, Hb Hazebrouck, detected on Sysmex XN-9000. Clin Chem Lab Med; 60(5): e116-e118.
- [3] **Moioi V et al. (2019):** Mozhaisk haemoglobin variant effects on leukocyte differential channel using the Sysmex XN series. Clin Chem Lab Med; 57(12): e324-e327.
- [4] **Combaluzier S et al. (2023):** Detection of unstable haemoglobin variants with Sysmex XN-10. Int J Lab Hematol; 45(2): e21-e23.
- [5] **Rosetti M et al. (2015):** A rare case of Hemoglobin Leiden interfering with the DIFF channel of Sysmex XE-2100. Scand J Clin Lab Invest; 75(5): 436-7.
- [6] **Mongelli F et al. (2016):** A rare and unstable hemoglobin variant, Hb M Dothan  $\beta$  25/26 (-GTG), detected by the anomalous cytogram on Sysmex XE-2100. Clin Chem Lab Med; 54(2): e31-3.
- [7] **Jongbloed W et al. (2018):** Unstable haemoglobin variant Hb Leiden is detected on Sysmex XN-Series analyzers. Clin Chem Lab Med; 56(9): e249-e250.