

Guide pour comprendre les motifs derrière la création de ce rapport sur l'utilisation de la cytométrie en flux pour détecter l'hémoglobinurie paroxystique nocturne

La présente note s'adresse aux cliniciens, qui sont invités à effectuer des rapprochements entre le tableau clinique du patient et ses résultats aux épreuves de laboratoire afin de poser un diagnostic formel d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN).

Cette déclaration concorde avec le concept des « six P », auquel on recourt pour résumer le tableau clinique du patient, et permet au clinicien de poser un diagnostic définitif fondé sur les résultats aux épreuves de laboratoire, le tableau clinique et la présentation symptomatique du patient.

Ce test permet de déterminer le nombre de globules rouges HPN de type II (déficit partiel en protéine CD59) et de globules rouges HPN de type III (déficit total en CD59), ainsi que le nombre total de globules rouges affectés (type II et type III). Pour éviter toute confusion, il ne fait pas mention des cellules de type I (expression normale de CD59). Ces résultats indiquent la présence de clones HPN dans les deux types de cellules.

Les granulocytes ou neutrophiles et les monocytes doivent être évalués et comptabilisés séparément. Ces résultats indiquent la présence de clones HPN dans les deux types de cellules.

Les réactifs à privilégier pour les globules rouges sont les suivants :

- CD235aFITC pour le fenêtrage
- CD59PE pour la détection du glycosylphosphatidylinositol (GPI)

Il convient de rechercher des détails pour déterminer quels réactifs ont été utilisés afin de confirmer que des méthodes de haute sensibilité ont été employées.

Deux marqueurs liés au GPI et un marqueur spécifique de la lignée (pour le fenêtrage) devraient être utilisés par lignée. Il convient de rechercher les réactifs de premier choix suivants :

- Pour les granulocytes (neutrophiles) :
 - CD15 pour le fenêtrage
 - Alérollysine fluorescente (FLAER) + CD24 ou CD157 pour la détection du GPI
- Pour les monocytes :
 - CD64 pour le fenêtrage
 - FLAER + CD14 ou CD157 pour la détection du GPI

MODÈLE DE RAPPORT NORMALISÉ SUR LE DÉPISTAGE DE L'HPN AU MOYEN DE LA CYTOMÉTRIE EN FLUX

INTERPRÉTATION

L'analyse cytométrique ne démontre aucune population (taux indécodable); démontre une population mineure ($\leq 1\%$); démontre une population ($> 1\%$) de globules rouges/blancs déficitaires en protéines liées au GPI (c.-à-d. population de cellules dont l'immunophénotype est associé à la physiopathologie appelée « hémoglobinurie paroxystique nocturne » [HPN]).

Si mineur ou présence sélectionnée. Corrélations avec les marqueurs de l'hémolyse grâce à un panel hémolytique et/ou un examen approfondi du tableau clinique du patient sont indiqués pour déterminer les prochaines étapes à suivre dans la prise en charge de celui-ci.

Populations de cellules déficitaires en GPI	Évaluation actuelle	Évaluation antérieure	Évaluation antérieure
		Date de l'entrée de données (JJ-MM-AAAA) ou AUCUNE	Date de l'entrée de données (JJ-MM-AAAA) ou AUCUNE
Érythrocytes de type III (déficitaires en GPI) (%) (CD235a+, CD59-)	[Valeur]	[Valeur]	[Valeur]
Érythrocytes de type II (partiellement déficitaires en GPI) (%) (CD235a+, CD59-/intermédiaires)	[Valeur]	[Valeur]	[Valeur]
Tous les érythrocytes déficitaires en GPI (%) (type III plus type II)	[Valeur]	[Valeur]	[Valeur]
Neutrophiles déficitaires en GPI (%) (CD15+, FLAER-, CD157-)	[Valeur]	[Valeur]	[Valeur]
Monocytes déficitaires en GPI (%) (CD64+, FLAER-, CD157-)	[Valeur]	[Valeur]	[Valeur]

Technologiste : Saisie

Technologiste 1: [] Technologiste 2: []

La discordance entre la taille des populations de globules rouges et de globules blancs déficitaires en GPI peut être due à une hémolyse et/ou à une transfusion.

Érythrocytes marqués à CD235aFITC et CD59PE. La sensibilité de l'analyse est meilleure que 0,01 %.

Leucocytes marqués à FLAER, CD157PE, CD64ECD, CD15PCS, CD45PC7. La sensibilité de l'analyse est meilleure que 0,1 %.

La sensibilité peut varier de 0,01 % à 0,1 %, selon le nombre d'événements acquis. Cependant, chez les patients sévèrement pan-cytopéniques, la sensibilité de l'analyse de leucocytes peut être beaucoup plus basse.

De plus amples renseignements à l'intention du médecin et du patient sont accessibles sur le site Web du Réseau HPN Canada à l'adresse suivante : www.reseauHPN.ca

HPN Classique : Le diagnostic clinique d'HPN est fonction de la présence de populations d'érythrocytes et de leucocytes déficitaires en GPI qui sont associées à des résultats négatifs au test de Coombs direct pour ce qui est de l'hémolyse et/ou qui présentent des signes d'événements thrombotiques pouvant mettre la vie en danger¹. La fréquence des tests dépend de paramètres cliniques et hématologiques : la reprise des tests, qui est indiquée lorsqu'on observe tout changement important dans les paramètres cliniques ou les valeurs de laboratoire, est recommandée au moins tous les ans à des fins de surveillance régulière².

HPN - Anémie aplasique : Des populations de cellules déficitaires en GPI peuvent être détectées chez 40 à 57 % des patients atteints d'anémie aplasique. La taille des clones HPN, qui est déterminée par la taille de la population de cellules déficitaires en GPI dans les lignées de leucocytes (les plus importantes ayant été détectées dans les granulocytes/neutrophiles et les monocytes), peut évoluer au fil du temps et progresser en un cas d'HPN clinique³. Dans les cas d'anémie aplasique, les lignes directrices internationales recommandent le dépistage de l'HPN au moment du diagnostic, puis tous les 3 à 6 mois au départ, puis moins souvent lorsque la proportion de cellules déficitaires en GPI demeure stable au cours d'une période initiale de deux ans⁴.

HPN - Syndrome myélodysplasique : Dans les cas de SMD, des populations de cellules déficitaires en GPI peuvent être détectées chez environ 2 % des patients atteints d'un syndrome myélodysplasique⁵ et peuvent évoluer avec le temps. Envisagez de dépister l'HPN au moment du diagnostic de SMD hypoplasique ou en cas de résultats négatifs au test de Coombs direct pour ce qui est de l'hémolyse.

1. Sutherland DR, et al. *Cytometry B Clin Cytom* 2012; 82(4):195-208; 2. Sutherland DR, et al. *Cytometry Protoc Cytom* 2015; 72:6.37.1-29; 3. Sutherland DR, et al. *Cytometry B Clin Cytom* 2014; 86(1):44-55; 4. Borowitz M, et al. *Cytometry B Clin Cytom* 2010; 78(4):211-30; 5. Scheinberg P, et al. *Haematologica* 2010; 95(7):1075-80; 6. Killick SB, et al. *Br J Haematol* 2016; 172(2):187-207; 7. Raza A, et al. *Cytometry B Clin Cytom* 2014; 86(3):175-82.

Il est souhaitable d'éviter les formulations ambiguës pour décrire les résultats. Ainsi, la formulation « déficit en protéines liées au GPI » serait appropriée, comme il convient d'associer les résultats des épreuves de laboratoire au tableau clinique pour établir ou confirmer le diagnostic clinique.

La classification des cellules présentant un déficit en ancrés GPI est claire et a été adaptée de l'ouvrage suivant : Davis BH, et coll. *CLSI H52-A2 Red Blood Cell Diagnostic Testing Using Flow Cytometry; Approved Guideline*, 2^e éd. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2014.

Résultats – Il est recommandé de présenter les résultats de la nouvelle évaluation en prenant soin d'afficher également ceux des évaluations antérieures afin de permettre au clinicien de dégager des tendances quant à l'évolution de la taille des clones au fil du temps en un seul coup d'œil.

La sensibilité de la méthode définit la limite de détection inférieure : combien de cellules présentant un déficit en ancrés GPI faut-il pour qu'elles soient détectées dans des échantillons normaux ? La sensibilité devrait être indiquée séparément pour les globules blancs et les globules rouges.

Pour toute autre question clinique ou portant sur les épreuves de laboratoire, veuillez communiquer avec le réseau HPN Canada.

Déclarations de consensus pour la réalisation d'un nouveau test selon le tableau clinique du patient. Ces déclarations ont été incluses pour mettre en lumière les tests appropriés et minimiser le risque d'entreprendre de nouveaux tests inutiles et inappropriés.

Pour obtenir de plus amples détails sur la mise au point et la validation des tests, veuillez consulter les références à l'appui.