

# SEED Hématologie

Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex  
Juillet 2015

## **Interférences dans les échantillons en hématologie automatisée, alertes et interprétation des résultats - Partie 1**

*Ce bulletin d'information a pour objectif de passer en revue les variables préanalytiques de l'analyse de la formule sanguine complète et de la numération différentielle, les interférences observables, les alertes associées aux résultats qui en découlent, leur interprétation et les solutions possibles. Il s'agit du 1er volet d'une publication consacrée à ce sujet. Il se penche sur les interférences affectant la mesure de l'hémoglobine et la numération érythrocytaire.*

### **Mots clés :**

Hb, érythrocyte, interférence.

### **Introduction et contexte**

Les examens hématologiques s'intéressent à l'analyse de cellules vivantes. Ce constat indique à lui seul que les échantillons sanguins destinés aux analyses hématologiques doivent être dans un état aussi « proche du vivant » que possible pour représenter avec précision l'état de santé ou physiologique du patient au moment du prélèvement. Outre la difficulté que représente la préservation des cellules jusqu'à leur analyse, la précision de l'analyse, de la mesure et de la numération des composants sanguins cellulaires et non cellulaires (comme l'hémoglobine), en suspension dans le sang total, constitue un autre défi de taille. Certaines méthodes utilisées pour améliorer la stabilité de l'échantillon, par exemple le recours à des anticoagulants, sont également susceptibles de fausser les résultats.

Les progrès réalisés au fil du temps par les technologies d'analyse hématologique employées en laboratoire sont certes considérables, mais ne permettent toujours pas d'éliminer totalement les limites posées par ces obstacles. Pour que les examens hématologiques fournissent des résultats précis et fiables, le système de mesure doit être spécifique. Ceci signifie que seul l'analyte ou le paramètre d'intérêt doit faire partie des résultats. La présence de toute autre substance détectable affectant la précision des résultats constitue ce que l'on appelle une interférence.

Celle-ci doit être du moins minimisée ou évitée. Il faut savoir les détecter lorsqu'elles existent et en tenir compte pour interpréter correctement les résultats.

### **Qu'est-ce qu'une interférence ?**

Il n'est bien évidemment pas souhaitable qu'une substance autre que le paramètre de mesure soit comprise dans ou affecte le résultat final, car les résultats sont alors faussés : ils ne reflètent pas le véritable état biologique du patient. On désigne ce phénomène par le terme « interférence ». La présente discussion a pour but de détailler les causes pouvant mener à une interférence, d'exposer les solutions correctives éventuellement applicables en laboratoire, et d'expliquer les implications possibles pour le diagnostic clinique.

### **Quelles sont les causes pouvant mener à une interférence analytique ?**

Les variables susceptibles d'exercer une influence sur les résultats, et donc de les fausser, sont nombreuses. Certaines d'entre elles sont décrites ci-dessous. On peut les répartir en deux grandes catégories : les facteurs préanalytiques et les facteurs analytiques.

### **Facteurs préanalytiques**

À partir des éléments développés ci-avant, il apparaît clairement que la qualité des échantillons peut être

compromise, et donc les résultats faussés, avant même d'avoir procédé à l'analyse. Pour garantir des résultats de qualité, il convient de prélever correctement l'échantillon, de remplir le tube de façon adéquate, de choisir un anticoagulant adapté, et de respecter strictement les consignes de stockage de l'échantillon avant analyse.

#### 1. *Technique de la phlébotomie*

Il convient d'éviter de laisser le garrot en place trop longtemps ; ceci pourrait entraîner une hémococoncentration et une numération cellulaire faussement élevée.

#### 2. *Choix de l'anticoagulant*

L'EDTA est l'anticoagulant le plus approprié pour l'analyse de la formule sanguine complète (FSC). Les deux types d'EDTA, K<sub>2</sub> et K<sub>3</sub> sont acceptables, bien que l'EDTA K<sub>2</sub> soit aujourd'hui préféré en raison de sa solubilité supérieure, qui limite le gonflement des cellules dans les échantillons plus anciens. Cependant, l'EDTA est connu pour entraîner une agrégation plaquettaire ainsi qu'une agglutination leucocytaire. Par conséquent, si une agrégation plaquettaire est détectée pendant l'analyse il convient de vérifier l'échantillon au microscope pour confirmer une éventuelle thrombocytopenie franche. Les échantillons présentant une agrégation plaquettaire peuvent être resuspendus dans du citrate trisodique ou de l'héparine, puis réanalysés. Ce procédé permet en général de remédier à l'agrégation plaquettaire, bien que ce ne soit pas toujours le cas. À noter qu'en cas d'analyse d'un échantillon de sang citraté, seule la numération plaquettaire doit être exploitée.

#### 3. *Remplissage du tube*

Il est important que le tube soit correctement rempli pour garantir l'exactitude du rapport entre l'anticoagulant et le sang. Un remplissage insuffisant peut provoquer un rétrécissement et une dégénérescence des cellules, et donc un hématoците (HCT) faussement bas ainsi qu'une concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) faussement élevée. En outre, le tube doit être correctement mélangé afin de garantir que l'échantillon ne coagule pas, car cela fausserait les résultats. En règle générale, on commence à observer des changements cellulaires seulement si le volume de remplissage est inférieur à 2 ml.

#### 4. *Manipulation de l'échantillon avant analyse*

Les conditions de stockage ont un impact considérable sur la nature des résultats obtenus à l'aide d'analyseurs automatisés. Comme précisé ci-avant, les changements cellulaires peuvent avoir des effets tant qualitatifs que quantitatifs. Un analyseur automatisé fonctionne selon des principes qui reposent sur l'examen des propriétés structurales des cellules pour déterminer la numération, la mesure du volume et la différenciation morphologique.

Les cellules gonflent à mesure que l'échantillon vieillit. Lorsque ce gonflement est excessif, il peut causer une fragmentation des cellules en particules plus petites. Ce phénomène peut toucher aussi bien les érythrocytes que les plaquettes, et conduire à un volume globulaire moyen (VGM) et à un volume plaquettaire moyen (VPM) tous les deux bas. En outre, la fragmentation des plaquettes peut résulter en une numération plaquettaire faussement élevée. La vitesse à laquelle les changements morphologiques surviennent en cas de retard dans l'analyse s'accélère en cas de remplissage insuffisant du tube de l'échantillon.

Une phlébotomie mal réalisée peut conduire à l'hémolyse des érythrocytes dans le tube de prélèvement, et donc aboutir à des résultats erronés.

##### a. *Changements qualitatifs*

En raison d'un possible effet combiné du vieillissement de l'échantillon et des anticoagulants, il convient de réaliser systématiquement un frottis de sang périphérique sur des échantillons aussi frais que possible, datant de préférence de moins d'1 heure. En effet, les changements morphologiques induits par l'EDTA commencent à apparaître dans les 3 heures, et s'aggravent au-delà de 18 heures lorsque l'échantillon est stocké à température ambiante. Une température de stockage comprise entre 2 ET 8 °C ralentit ces changements, mais ne permet pas de les éviter. Comme mentionné auparavant, un remplissage insuffisant du tube contenant l'échantillon accélère encore ces changements.

- Morphologie des leucocytes : parmi les changements à attendre, on observe une perte de détails nucléaires ainsi qu'une vacuolisation du cytoplasme, dont le contour devient flou. Les changements structurels des neutrophiles sont très prononcés : leur noyau se détache

et rétrécit. Les monocytes présentent une vacuolisation importante, qui ne doit pas être confondue avec une phagocytose active. Les changements présentés par les lymphocytes incluent un bourgeonnement du noyau, qui se fractionne en 2 à 3 lobes, un phénomène qui peut être confondu avec une apoptose.

- Morphologie des érythrocytes : les érythrocytes sont en général moins touchés. Les changements significatifs commencent seulement à apparaître environ 6 heures après le prélèvement. Les changements sont progressifs ; ceux que l'on observe généralement sont la crénelure, phénomène dans lequel le contour de la cellule apparaît dentelé (à ne pas confondre avec une maladie rénale), et la transformation des cellules en sphères (à distinguer des sphérocytes produits dans les cas de brûlure et d'hémolyse).

#### b. Changements quantitatifs

Ici aussi, les changements qui apparaissent augmentent en importance avec le temps, et s'aggravent à des températures ambiantes élevées. Ainsi, si l'on veille à conserver l'échantillon à une température comprise entre 2 ET 8 °C, la plupart des paramètres resteront stables pendant une durée allant jusqu'à 24 heures. Les changements spécifiques aux paramètres sont répertoriés ci-dessous :

- VGM et HCT : à mesure que les cellules gonflent, le VGM et l'HCT augmentent. L'HCT sera faussement bas si l'échantillon est hémolysé au cours du prélèvement.
- Leucocytes et plaquettes : les numérations leucocytaire et plaquettaire déclinent rapidement à mesure que surviennent les changements liés à l'EDTA et au vieillissement. Pour la numération leucocytaire, les changements morphologiques décrits ci-avant vont également affecter la numération différentielle réalisée par analyseur automatisé. À noter que l'importance ou l'ampleur de l'imprécision des résultats dépendra aussi de la technologie de l'analyseur utilisé. Les résultats obtenus à l'aide d'analyseurs employant les technologies optiques classiques, par exemple, sont davantage affectés par les changements liés au volume touchant les leucocytes, par rapport aux résultats d'analyseurs s'appuyant sur la cytométrie en flux par fluorescence avec coloration de l'ADN. Ceci est dû à la plus grande stabilité de l'ADN, qui reste intact plus longtemps, alors que la modification des autres

propriétés structurelles apparaît plus tôt, comme les changements concernant le volume et le noyau. La technologie de cytométrie en flux par fluorescence intégrée par Sysmex à ses analyseurs des séries X-Class et XN permet d'obtenir une numération différentielle automatisée fiable, et ce jusqu'à 48 heures après le prélèvement (dans la mesure où l'échantillon est conservé à une température comprise entre 2 ET 8 °C).

- La numération des réticulocytes commence à chuter après 6 heures.
- Les globules rouges nucléés (GRN) se désintègrent à température ambiante au bout d'1 ou de 2 jours.
- L'hémoglobine (Hb) est le paramètre le plus stable, et le reste jusqu'à 2 jours ; à noter cependant que le risque d'une lyse des érythrocytes augmente avec le temps et la température. Une hémolyse peut faire chuter l'HCT.

#### Influences analytiques

Outre les changements morphologiques normalement observables à l'examen du frottis, certains changements seront détectés par, ou exerceront une influence sur, l'analyse automatisée. Il convient ici de faire remarquer que c'est l'effet combiné des limitations inhérentes à l'analyseur et de l'interférence d'autres composants sanguins qui pose d'éventuels problèmes supplémentaires en termes de précision et de fiabilité des résultats. L'opérateur doit par conséquent être pleinement conscient des capacités de l'analyseur qu'il utilise, afin de savoir lire les résultats aberrants que peuvent générer ces interférences.

Si les principes de mesure utilisés par les appareils pour certains paramètres varient parfois d'une marque à l'autre, les échantillons problématiques posent les mêmes difficultés à la plupart des analyseurs. En cas de détection d'une possible interférence, l'analyseur doit être capable d'alerter l'opérateur et de lui fournir autant d'informations que possible sur la nature de l'interférence et les paramètres affectés. Certains analyseurs modernes, comme les Sysmex séries XT et XE, ainsi que la très évoluée série XN, vont même plus loin : ils suggèrent d'éventuelles solutions et signalent les pathologies possibles.

Ceci constitue une avancée considérable, qui augmente la rapidité de diagnostic et minimise le risque de passer à côté de pathologies graves.

### Quelles sont les interférences spécifiques et les alertes correspondantes à surveiller ?

La plupart des analyseurs différentiels en 3 et 5 populations s'appuient sur la méthode d'impédance, selon laquelle le principal discriminateur utilisé pour la numération des cellules est le volume.

Les leucocytes sont inclus dans la numération des érythrocytes et des plaquettes. Ceci n'est généralement pas un problème, car les leucocytes sont trop peu nombreux pour impacter la numération des érythrocytes et des plaquettes, bien que l'on observe certaines exceptions (cf. ci-dessous).

Sur les analyseurs Sysmex, les alertes sont de deux types : « anormales » ou « suspectes ». Les alertes anormales sont configurées à partir des plages de référence du patient dont le laboratoire dispose, et peuvent donc être modifiées afin d'être spécifiques au laboratoire considéré. Parmi ces alertes se trouvent celles relatives aux numérations : anisocytosis (anisocytose), leukocytosis (leucocytose), thrombocytopenia (thrombocytopénie), anaemia (anémie), neutrophilia (neutrophilie), monocytosis (monocytose), etc. Les alertes suspectes s'appuient en revanche sur des algorithmes arithmétiques, et ne peuvent pas être modifiées par l'utilisateur. Il s'agit notamment des alertes suivantes : *PLT clumps?* (agrégats plaquettaires ?), *RBC Agglutination?* (agglutination des érythrocytes ?), *HGB interference?* (interférence Hb ?), *HGB defect?* (Hb déficiente ?) et *Iron deficiency?* (carence en fer ?).

### Alertes relatives aux érythrocytes et interférences

Avec les analyseurs différentiels en 3 et 5 populations, les numérations érythrocytaire et plaquettaire se fondent sur la mesure de la taille. Ainsi, toutes les particules détectées en

dehors de la plage définie par les discriminateurs, marqués LD et UD dans la figure 1, vont déclencher une alerte indiquant la possibilité de résultats peu fiables.

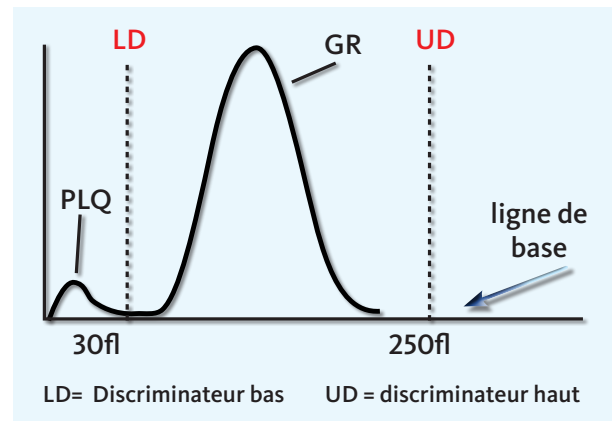


Fig. 1 Histogrammes plaquettaire et érythrocytaire illustrant les discriminateurs de taille utilisés pour identifier chacune de ces populations.

Les discriminateurs inférieur (LD) ou supérieur (UD) peuvent tous deux être touchés par une interférence ; le message d'alerte correspondant apparaîtra en regard du résultat concerné (cf. figure 2).

Avec les analyseurs différentiels Sysmex en 3 populations, la mesure des érythrocytes peut générer les messages d'alerte suivants :

- RL – hauteur anormale au niveau du discriminateur inférieur
- RU – hauteur anormale au niveau du discriminateur supérieur
- MP – pics multiples
- DW – indice de répartition

Les causes d'interférence possibles au niveau du discriminateur inférieur sur l'histogramme érythrocytaire, ainsi que les actions recommandées, sont répertoriées dans le tableau 1. Dans de tels cas, l'alerte RL s'affiche.

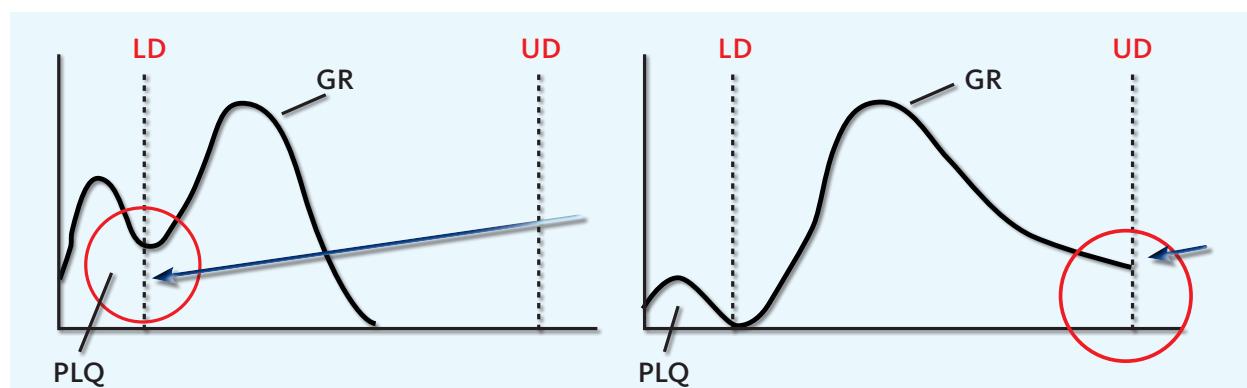
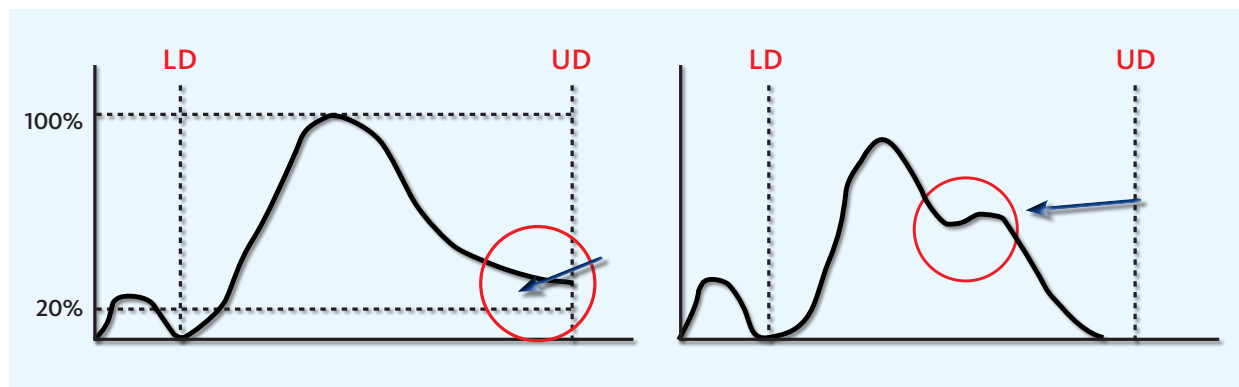


Fig. 2 Histogrammes érythrocytaires montrant une anomalie respectivement au niveau du discriminateur inférieur et du discriminateur supérieur.

**Tableau 1** Causes d'interférence possibles au niveau du discriminateur inférieur sur l'histogramme érythrocytaire, pouvant donner lieu à une numération érythrocytaire et/ou à une numération plaquettaire faussement basses ou élevées.

Cause	Action recommandée
Plaquettes géantes	À confirmer par un examen du frottis de sang périphérique
Micro-érythrocytes	Examen du frottis pour évaluer la gravité Une microcytose extrême peut indiquer une possible maladie héréditaire sous-jacente. Une carence en fer doit être exclue.
Fragments d'érythrocytes ou dysplasie érythrocytaire	Il est recommandé de procéder à un examen de la lame. Les fragments peuvent constituer un indicateur précoce d'un éventuel épisode hémolytique.
Agrégats plaquettaires	Il est recommandé de procéder à un examen du frottis afin d'évaluer l'importance de l'agrégation et d'estimer la numération plaquettaire juste. Suggestion : resuspension dans du citrate trisodique ou de l'héparine avant réanalyse. Il peut s'avérer nécessaire de réaliser une numération plaquettaire manuelle.



**Fig. 3** Histogrammes érythrocytaires présentant respectivement un double pic et une violation du discriminateur supérieur.

En plus des alertes RL et RU indiquées ci-avant, les alertes DW et MP peuvent elles aussi être déclenchées.

Les alertes DW (cf. l'histogramme de gauche à la figure 3) sont générées lorsque RL ou RU ne chutent pas en dessous de la barre des 20 % au-dessus de la base. Dans ce cas, l'IDR-SV et l'IDR-CV ne s'affichent pas. Les antécédents cliniques peuvent aider à déterminer les mesures à prendre, le cas échéant. L'alerte MP survient en cas de double pic sur l'histogramme érythrocytaire.

Les causes possibles de déclenchement des alertes DW et MP sont répertoriées respectivement dans le tableau 2 et le tableau 3.

**Tableau 2** Possibles causes d'interférence avec les mesures de l'indice de répartition des globules rouges

Cause	Action recommandée
Agglutinines froides (agrégation des érythrocytes)	Chauffer l'échantillon à 37 °C et réanalyser.
Formation de rouleaux (rare)	À confirmer par un examen du frottis.
Anisocytose extrême (IDR très élevé)	Examen de la lame

**Tableau 3** Possibles causes de pics multiples sur l'histogramme érythrocytaire

Cause	Action recommandée
Carence en fer actuellement traitée par thérapie de substitution en fer On peut observer ce même schéma si un patient carencé en fer reçoit une transfusion sanguine.	La première population est générée par les cellules microcytaires carencées en fer, et la deuxième par les cellules plus récentes, non carencées (normocytaires). Dans le cas d'une transfusion sanguine, le second pic représente les cellules provenant de la transfusion.

<p>Carence en vitamine B12/en acide folique actuellement traitée.</p> <p>On peut observer ce même schéma si un patient carencé en vitamine B12/acide folique reçoit une transfusion sanguine.</p>	<p>Le premier pic est généré par les cellules normales plus récentes (normocytaires). Le second pic représente les cellules macrocytaires produites pendant la période de carence nutritionnelle.</p> <p>Dans le cas d'une transfusion sanguine, le premier pic représente les cellules provenant de la transfusion.</p>
<p>Leucocytose extrême (GB &gt;600 X 10<sup>3</sup>/μL) (p. ex. leucémie lymphoïde chronique)</p>	<p>Dans ce cas, le second pic est souvent moins important, mais il est capital de toujours envisager les résultats dans leur ensemble afin de détecter une éventuelle corrélation entre une possible numération leucocytaire élevée et l'alerte.</p> <p>Il est conseillé de réexaminer la lame, à moins qu'il s'agisse d'un patient connu.</p>

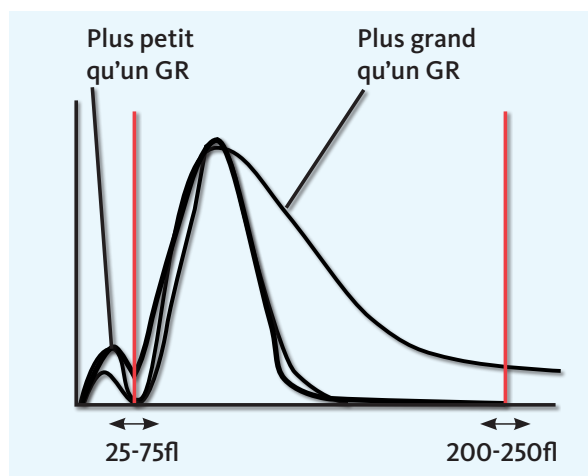
Si un histogramme érythrocytaire présente plus d'un pic, la numération érythrocytaire, l'IDR-CV, l'IDR-SD et le VGM sont marqués d'une alerte. Si le pic supplémentaire est causé par une population érythrocytaire dimorphe, la numération érythrocytaire est exacte. Une leucocytose extrême peut conduire à une numération érythrocytaire inexacte. Dans ce cas, les résultats doivent être exploités avec prudence.

Sur les analyseurs Sysmex de la série X-Class, la survenue de ces mêmes interférences conduisent souvent les instruments à déclencher les alertes de répartition érythrocytaire et/ou plaquettaire anormale. L'avantage ici réside dans le fait que l'écran Service affiche davantage de détails sur les érythrocytes. D'autres alertes spécifiques aux érythrocytes et aux plaquettes peuvent être générées, en fonction de la source de l'interférence (cf. figure 4).

Voici quelques exemples d'interférences spécifiques, accompagnés de propositions de mesures correctives

*a. Histogramme érythrocytaire présentant un double pic en raison d'une leucocytose extrême.*

En cas de leucocytose extrême, il n'est pas rare d'observer un second pic sur l'histogramme érythrocytaire. Pour apparaître en deuxième population sur l'histogramme érythrocytaire, la numération des leucocytes est en général supérieure ou égale à 600 x 10<sup>9</sup>/L. Une numération leucocytaire aussi élevée ne survient généralement qu'en cas de leucémie chronique.



**Fig. 4** Exemples d'histogrammes montrant l'effet d'interférences et la répartition érythrocytaire anormale qui en résulte. (en bleu = répartition érythrocytaire normale, en orange = courbe montrant une interférence au niveau du discriminateur inférieur, en vert = courbe montrant une interférence au niveau du discriminateur supérieur)

L'interférence dans l'histogramme érythrocytaire se limite en général à la leucémie lymphoïde chronique, où les cellules présentent toutes une petite taille similaire, par opposition à la leucémie myéloïde chronique, où les leucocytes sont d'une taille bien supérieure. Il est possible de confirmer que l'origine du second pic est due à une leucocytose en remarquant la numération leucocytaire élevée, et en analysant la numération différentielle, qui présentera une numération leucocytaire extrêmement haute. Remarque : parallèlement aux interférences érythrocytaires, une numération leucocytaire extrêmement élevée peut également causer davantage d'interférences pouvant affecter d'autres paramètres. On peut citer par exemple les alertes de turbidité Hb et de scattergramme leucocytaire anormal, qui peuvent indiquer d'éventuels écarts dans la mesure de l'hémoglobine ou la numération différentielle. Ces écarts feront l'objet d'une discussion détaillée dans d'autres sections du présent document, ou dans d'autres articles SEED à venir.

Il est donc essentiel de considérer l'ensemble des résultats, y compris la numération différentielle et les alertes associées. Afin d'obtenir une numération érythrocytaire exacte en cas d'interférence par une leucocytose extrême, l'échantillon doit être dilué à l'aide d'un diluant adapté (une solution saline normale ou le diluant spécifique de l'analyseur, p. ex. CellPack® pour les analyseurs Sysmex). Une fois dilué, l'échantillon doit être

réanalysé. La numération érythrocytaire ainsi obtenue doit ensuite être multipliée par le facteur de dilution. Sur les analyseurs Sysmex différentiels en 5 populations, la numération érythrocytaire exacte s'affiche sur l'écran Service de l'analyse d'origine (veuillez vous reporter au manuel d'utilisation de l'appareil utilisé).

**b. Numération érythrocytaire faussée par l'agglutination des érythrocytes.**

L'agglutination des érythrocytes est générée par la présence d'anticorps qui se lient aux membranes des érythrocytes adjacents, conduisant à la formation d'agrégats de grande taille. Ce phénomène peut être causé par des anticorps chauds comme par des anticorps froids, bien que ces derniers en soient plus fréquemment à l'origine. L'agglutination des érythrocytes peut entraîner une élévation du VGM et de la CCMH. Elle peut en outre être responsable d'une numération leucocytaire faussement élevée lorsque l'appareil utilisé est un analyseur différentiel en 3 populations. La raison réside dans le fait que les agrégats d'érythrocytes résistent davantage au réactif de lyse, et que tout agrégat non lysé est compté comme un leucocyte (et non comme un érythrocyte). En effet, dans la méthode de numération érythrocytaire par impédance, ces agrégats d'érythrocytes s'agglutinent les uns avec les autres pour former de grands amas cellulaires qui, lorsqu'ils passent à travers l'ouverture de numération, ne valent que pour de grandes unités. Ce phénomène peut aboutir à des résultats erronés, comme illustré dans le tableau 4.

**Tableau 4** Interférence causée par une agglutination des érythrocytes

Histogramme érythrocytaire anormal – IDR très important
Numération érythrocytaire et hémocrite faussement bas
VGM et CCMH faussement élevés (> 37 g/dl)
Hémoglobine faussement basse (si la lyse est insuffisante)
Numération leucocytaire faussement élevée

**c. Interférence avec la mesure de l'hémoglobine**

L'hémoglobine est mesurée selon le principe de spectrophotométrie. Un réactif de lyse est utilisé pour détruire la membrane des érythrocytes, ce qui a pour effet de libérer l'hémoglobine contenue dans les cellules. La concentration en hémoglobine est déterminée à partir

de l'intensité de la couleur du diluant dans lequel l'hémoglobine est en suspension libre. Par conséquent, toute substance autre que l'hémoglobine agissant sur ou contribuant à l'absorption de la lumière peut fausser la mesure de l'hémoglobine. Les analyseurs intègrent différents mécanismes qui alertent l'utilisateur des possibles interférences. Dans un tel cas, les analyseurs Sysmex affichent l'alerte « HGB turbidity? ».

Les interférences possibles sont récapitulées dans le tableau 5.

**Tableau 5** Causes possibles d'une mesure inexacte de l'hémoglobine

Hémolyse
Agglutination des érythrocytes
Lipides
Numération leucocytaire anormalement élevée

Une CCMH > 36,5 g/dl va systématiquement déclencher l'alerte « HGB turbidity? ». Ceci est dû au fait que la CCMH est un paramètre généralement stable : il n'existe que peu de causes cliniques pouvant conduire à une valeur élevée. Ainsi, en cas d'écart, il convient d'exclure une erreur analytique. La CCMH est un paramètre calculé ( $CCMH = Hb/HCT$ ). Par conséquent, sa valeur peut être élevée si l'HCT est faussement bas ou que l'Hb est faussement élevée.

En cas d'hémolyse, on peut obtenir une CCMH faussement élevée pour deux raisons :

■ **Hémolyse in vivo**

Ce terme désigne la lyse des érythrocytes du patient, qui libèrent alors l'Hb qu'ils contiennent dans le sang. Par conséquent, la mesure de l'Hb va inclure l'Hb présente dans le plasma en plus de celle libérée au cours de l'analyse par les érythrocytes encore intacts. L'HCT (mesure de la masse des érythrocytes intacts) sera faible par rapport à l'Hb mesurée. Ainsi, on peut obtenir une CCMH élevée en raison de l'Hb en suspension libre incluse à tort dans la mesure.

■ **Hémolyse ex vivo**

Ce phénomène est nettement plus courant ; il est en général dû à une phlébotomie mal réalisée, ou au

vieillesse des échantillons. Dans ce cas de figure, la lyse des érythrocytes se produit dans le tube de prélèvement. L'Hb mesurée est exacte (car les érythrocytes étaient tous intacts au moment du prélèvement de l'échantillon) ; en revanche, l'HCT sera faible car les érythrocytes qui se seront désintégrés dans le tube ne seront pas comptabilisés. Ici aussi, le rapport entre l'Hb et l'HCT sera faussé, et donnera éventuellement lieu à une CCMH faussement élevée. Les échantillons hémolysés, que l'hémolyse soit due au vieillissement ou à une ponction veineuse traumatique, doivent être prélevés.

Une agglutination des érythrocytes peut aussi conduire à une CCMH élevée, en raison d'un HCT faussement bas (comme décrit ci-avant). Si les érythrocytes sont fortement agglomérés, le réactif de lyse n'est pas en mesure de pénétrer efficacement ; ce cas de figure peut donc engendrer une Hb faussement basse, en raison d'une lyse incomplète des érythrocytes contenus dans l'échantillon. Après une incubation à 37 °C, ce problème doit être corrigé.

En cas de lipémie comme de leucocytose extrême ( $> 100 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), la mesure de l'Hb peut être faussement élevée.

#### ■ *Lipémie*

Dans le cas d'une lipémie, une procédure de remplacement du plasma est en général lancée pour obtenir une mesure exacte de l'hémoglobine. Ceci implique une centrifugation de l'échantillon et le remplacement du plasma surnageant par une solution saline adaptée (avec les analyseurs Sysmex, c'est le diluant standard CellPack® qui doit être utilisé). Il convient de veiller à ne pas retirer les leucocytes et les plaquettes par cette même manœuvre. Il est recommandé de ne mesurer que l'Hb par cette réanalyse, car le processus de centrifugation génère souvent des écarts au niveau des autres paramètres. À noter que la corrélation de l'ensemble des indices calculés à partir de la mesure de l'Hb obtenue peut ne

plus être bonne. Dans de tels cas, le médecin en charge du patient doit systématiquement être consulté.

#### ■ *Leucocytose*

Dans le cas d'une numération leucocytaire extrêmement élevée, diluer l'échantillon peut contribuer à l'amélioration des résultats. La correction de la mesure de l'Hb est souvent peu significative, mais peut être importante dans le cas d'une anémie sévère.

Toutes les mesures correctives entreprises doivent le cas échéant être détaillées dans le rapport si elles sont susceptibles d'avoir un impact sur l'interprétation clinique, et donc sur l'intervention clinique.

### Informations à se rappeler

- Si l'analyse automatisée de la formule sanguine complète a fait de nets progrès, des limitations subsistent et doivent être prises en compte dans le traitement des échantillons et l'interprétation des résultats.
- Il convient de veiller au prélèvement, au transport et au stockage corrects des échantillons afin d'éviter d'introduire des variables pouvant conduire à des résultats faussés.
- L'interprétation des résultats doit englober leur vérification complète, y compris les valeurs chiffrées, les alertes, les histogrammes et les scattergrammes.
- Lorsqu'une interférence a été identifiée, il convient d'entreprendre les actions correctives qui s'imposent, dans le respect des protocoles du laboratoire.

### Références :

Dacie and Lewis Practical Haematology, ninth edition by SM Lewis, B J Bain, I Bates

*Compilé par*

Ndwakhulu Nemuthengame

*Contrôlé par*

Dr Marion Münster