

# **Sysmex Educational Enhancement & Development**

Développement et perfectionnement des connaissances Sysmex

Bulletin d'information SEED-Afrique | No 29 | Aout 2017

## **Teneur en hémoglobine des réticulocytes : valeur ajoutée pour les diagnostics de l'anémie**

*L'objectif de ce bulletin d'information est de présenter la teneur en hémoglobine des réticulocytes et son rôle dans le diagnostic de l'anémie par carence en fer.*

### **Mots-clés :**

anémie, carence en fer, teneur en hémoglobine des réticulocytes, Ret-He

### **Diagnostic de l'anémie et rôle du laboratoire**

L'anémie constitue un énorme problème dans le monde, et par conséquent, la numération globulaire est l'analyse biologique la plus fréquemment demandée. La valeur de l'hémoglobine, exprimée en g/dl, est utilisée pour définir l'anémie, mais ne fournit aucune information sur sa cause probable. Afin de guider les cliniciens vers la pathologie sous-jacente éventuelle, il est nécessaire d'évaluer l'érythropoïèse, une partie intégrante de la numération globulaire. L'analyse automatisée permet l'évaluation de l'érythropoïèse à trois niveaux.

#### **a) Érythrocytes matures**

Les constantes classiques des globules rouges (érythrocytes), à savoir volume globulaire moyen (VGM), teneur moyenne des hématies en hémoglobine (TMHH) et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), servent de base pour classer les anémies en de vastes classes afin d'orienter les investigations avancées vers la cause sous-jacente probable. L'une des plus grandes difficultés est de distinguer de façon précise une anémie par carence en fer et une anémie liée à une affection chronique (les deux présentent des érythrocytes microcytaires), puis de surveiller la réponse au traitement, ou plus souvent, de déterminer pourquoi la réponse au traitement classique est insuffisante. Lorsque l'on s'appuie sur les paramètres érythrocytaires classiques pour évaluer la réponse, la limitation majeure réside dans le fait que ces paramètres ne donnent qu'une indication du bilan érythrocytaire moyen au cours des 120 derniers jours, ce qui correspond à la durée de vie des érythrocytes.

#### **b) Réticulocytes**

La numération des réticulocytes, exprimée sous forme de pourcentage ou de nombre absolu, constitue un paramètre extrêmement précieux malheureusement sous-utilisé. Elle fournit une image actuelle de l'activité érythropoïétique en indiquant le nombre absolu de cellules générées au cours des un à deux derniers jours.

#### **c) Informations fonctionnelles sur les érythrocytes**

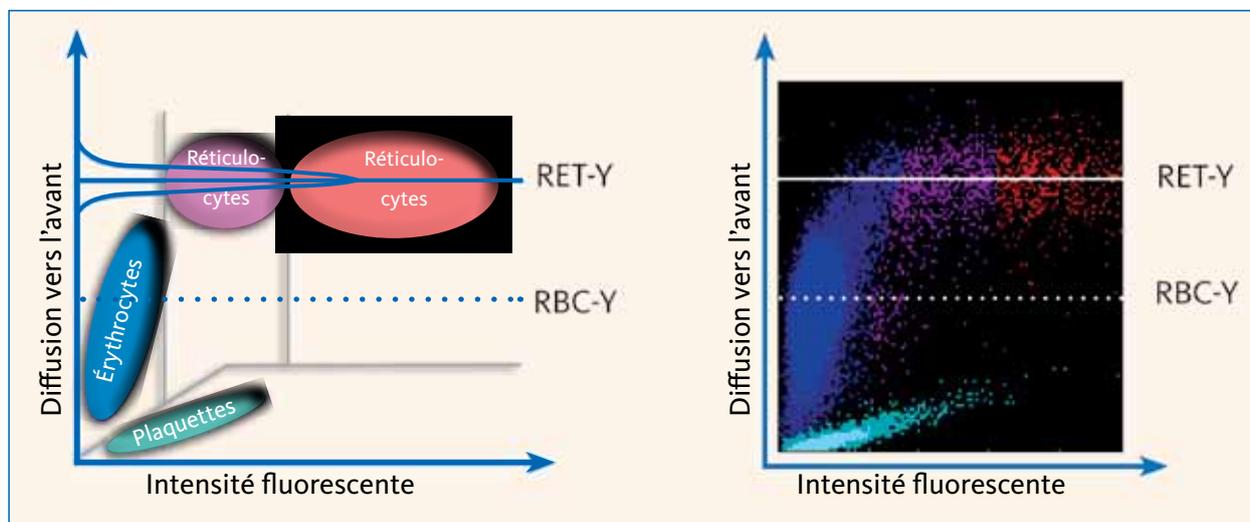
La « teneur en hémoglobine des réticulocytes » fournit une mesure de l'hémoglobination des réticulocytes exprimée en pg.

#### **Qu'est-ce que l'hémoglobine des réticulocytes ?**

L'hémoglobine des réticulocytes est la mesure de la teneur en hémoglobine moyenne dans la fraction de réticulocyte des érythrocytes dans la circulation périphérique. Elle reflète l'hémoglobination des érythrocytes qui ont été produits par la moelle osseuse au cours des un à deux derniers jours. Ainsi, elle fournit un cliché en temps réel de la qualité du développement des érythrocytes.

Comment l'hémoglobine des réticulocytes est-elle mesurée ?

Des informations sur la teneur en hémoglobine des réticulocytes peuvent être obtenues dans le cadre d'une numération globulaire lorsque l'échantillon est analysé en « mode réticulocyte » sur un analyseur Sysmex X-Class doté d'un canal réticulocytaire et équipé du logiciel approprié. L'analyseur utilise la cytométrie de flux par fluorescence associée à une coloration des acides nucléiques pour



**Figure 1** Schematic depiction of a Sysmex X-class analyser reticulocyte scattergram (left) and an actual scattergram (right) showing how the parameters Ret-He and RBC-He are obtained.

mesurer la quantité d'hémoglobine obtenue dans les réticulocytes. Sur le diagramme des réticulocytes, l'axe Y représente la diffraction (forward scatter), qui mesure la taille de chaque cellule, tandis que l'axe X représente l'intensité de la fluorescence, qui mesure la teneur en ARN. Les RBC-Y et Ret-Y représentent la diffusion vers l'avant moyenne des clusters d'érythrocytes matures et de réticulocytes, respectivement. Ce sont des nombres de canaux sans dimensions desquels deux paramètres sont dérivés. La teneur en hémoglobine des réticulocytes est exprimée par le paramètre « équivalent hémoglobine des réticulocytes » (Ret-He) et la teneur en hémoglobine des érythrocytes matures (RBC-He) est équivalente à la TMHH calculée dans la numération globale standard.

### Pourquoi est-il important de distinguer une anémie par carence en fer d'une anémie liée à une affection chronique ?

Le fer est un élément vital essentiel à la production d'hémoglobine. Il forme le cœur du groupe hémique, qui permet le transport de l'oxygène et son transfert vers et depuis les tissus. Lorsque les réserves en fer dans la moelle osseuse s'épuisent, la production d'hémoglobine ralentit et l'hémoglobination de chaque érythrocyte devient de plus en plus mauvaise. Par conséquent, les individus présentant une carence en fer développent une anémie se caractérisant par la présence d'érythrocytes microcytaires hypochromatiques, le degré d'anomalie étant directement lié à la durée de la diminution des réserves en fer. Le

traitement de l'anémie par carence en fer consiste donc assez simplement en une supplémentation en fer.

L'anémie liée à une affection chronique peut présenter un tableau hématologique similaire à celui d'une carence en fer, c'est-à-dire une anémie microcytaire hypochromatique. Contrairement à la carence en fer classique, les individus présentant une anémie liée à une affection chronique ont des réserves en fer accrues, en raison principalement d'un état inflammatoire sous-jacent. Cependant, le fer ne peut être libéré et n'est par conséquent pas disponible pour entrer dans la production des érythrocytes dans la moelle osseuse ; on appelle cela une carence fonctionnelle en fer. Le fait de donner une supplémentation en fer à ces patients ne réduirait pas l'anémie et risque même d'exacerber la situation de surcharge en fer. La surcharge en fer chronique est toxique pour les tissus et peut endommager les organes, le cœur y étant particulièrement vulnérable. Il est donc important de déterminer si l'anémie microcytaire hypochrome est due à une carence en fer fonctionnelle ou véritable.

### Quelles analyses de laboratoire servent à évaluer le bilan en fer ?

Les analyses classiques du fer impliquent une batterie d'analyses biochimiques qui comprennent généralement : ferritine, fer sérique, transferrine et saturation de la transferrine. Les résultats attendus figurent dans le tableau 1.

**Tableau 1** Résultats d'analyses classiques du fer observés dans le cadre d'une carence en fer véritable et d'une carence en fer fonctionnelle

	Carence en fer véritable	Carence en fer fonctionnelle
<b>Ferritine</b>	Bas	Élevé
<b>Fer sérique</b>	Bas	Bas
<b>Transferrine</b>	Élevé	Bas
<b>% saturation de la transferrine</b>	Bas	Normal

Tandis que ces deux états pathologiques peuvent paraître facilement identifiables selon les résultats biochimiques, ce n'est en réalité pas le cas car il existe une coïncidence significative. Les patients souffrant d'une carence en fer véritable peuvent présenter une inflammation concomitante, qui se traduirait par une hausse de la ferritine dans le cadre de la réponse en phase aiguë, ainsi que par d'autres modifications plus subtiles. Ces paramètres montrent également des variations diurnes significatives ; par conséquent, les résultats obtenus et leur interprétation peuvent différer selon l'heure de la journée à laquelle l'échantillon de sang a été prélevé.

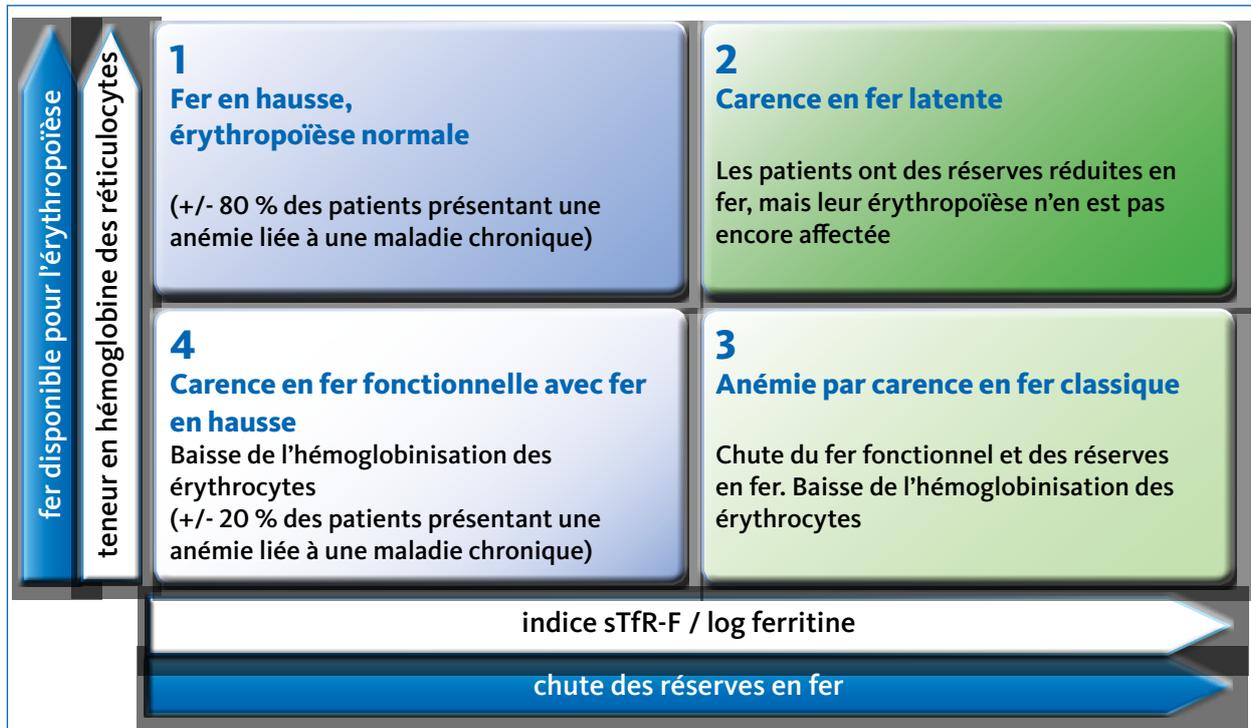
$$\text{Indice STfR-F} = \frac{\text{Récepteur soluble de la transferrine}}{\text{Log ferritine}}$$

**Figure 2** Indice récepteur soluble de la transferrine / ferritine

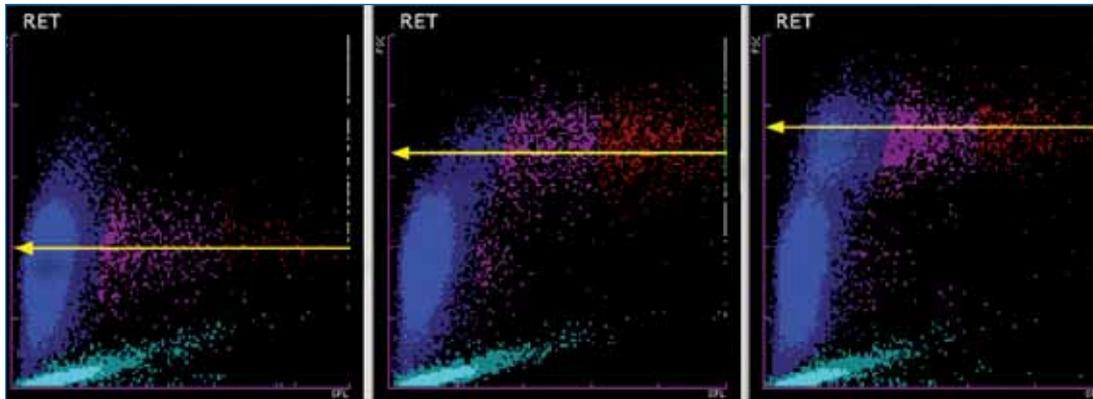
**Comment distinguer la carence en fer véritable de la carence en fer fonctionnelle ?**

L'association du paramètre hématologique Ret-He et des paramètres biochimiques ferritine et récepteur soluble de la transferrine peut fournir un moyen non équivoque de distinguer ces deux états pathologiques. La ferritine est une mesure indirecte des réserves en fer totales du corps, tandis que le récepteur soluble de la transferrine est directement proportionnel à l'importance de la carence en fer véritable. Cela signifie que plus les réserves du corps sont réduites, plus la valeur du récepteur soluble de la transferrine est élevée. Ces deux valeurs biochimiques sont exprimées sous forme d'indice (Figure 2), puis mises en relation par rapport à Ret-He sur la courbe de Thomas<sup>1</sup>.

La valeur Ret-He, représentée sur l'axe Y, indique si du fer est disponible pour entrer dans la production des



**Figure 3** La courbe de Thomas peut être utilisée pour distinguer la véritable carence en fer de la carence en fer fonctionnelle.



**Figure 4** Traitement efficace de la carence en fer classique, démontré par la normalisation de l'indice Ret-He dans les trois jours. Le cluster bleu représente des érythrocytes matures, tandis que les clusters rouge et violet représentent des réticulocytes très jeunes et en cours de maturation, respectivement. Il faut noter le cluster d'érythrocytes matures avec une teneur en hémoglobine normale dans le schéma 3.

érythrocytes. Plus la valeur Ret-He est basse, plus la quantité de fer disponible est limitée. L'indice récepteur soluble de la transferrine/log ferritine (indice sTfR-F) indique l'état des réserves en fer ; plus la valeur est élevée, plus les réserves sont réduites. En appliquant une valeur limite pour les indices Ret-He et sTfR-F, quatre quadrants sont identifiés comme indiqué dans la figure 3. Les valeurs limites sont déterminées par rapport aux populations normales. Étant donné que l'inflammation affecte la fiabilité de la ferritine en tant que marqueur du véritable bilan en fer, les valeurs limites pour l'indice sTfR/log ferritine seront différentes selon que les valeurs CRP sont inférieures ou supérieures à 5 mg/l. Bien que la courbe de Thomas se soit révélée très utile cliniquement, elle est limitée par le fait que le récepteur soluble de la transferrine est une analyse relativement chère qui n'est pas systématiquement utilisée.

#### **Le paramètre Ret-He peut-il être utilisé comme paramètre autonome ?**

Même en l'absence de l'indice sTfR-F, Ret-He est toujours extrêmement utile dans l'évaluation de l'anémie par carence en fer. Tandis qu'une seule valeur Ret-He basse peut être due soit à une carence en fer classique, soit à une carence en fer fonctionnelle (quadrants 3 et 4 dans la figure 3), des mesures en série sont riches en informations. Après avoir commencé à prendre une supplémentation en fer, une personne souffrant d'une carence en fer classique présentera une augmentation spectaculaire du paramètre Ret-He, avec

une normalisation des taux en l'espace d'environ trois jours, tandis qu'une personne souffrant d'une carence en fer fonctionnelle ne présentera aucune modification (figure 4).

La seule limite de Ret-He est que, chez les patients souffrant d'une anémie microcytaire héréditaire, telle que les thalassémies, il sera bas même en l'absence de carence en fer. Cependant, il existe d'autres signes tels que des antécédents de longue date et l'indice de distribution érythrocytaire (IDE) qui permettront de distinguer ces deux cas. La microcytose due à une carence en fer est généralement associée à un IDE élevé, tandis que les thalassémies afficheront un IDE normal ou bas. De même, le paramètre Ret-He peut être normal si le patient souffre d'une anémie mégaloblastique concomitante, mais une fois encore, d'autres signes, tels que la présence d'une population dimorphe sur l'histogramme érythrocytaire, devraient alerter le personnel du laboratoire quant à cette possibilité.

#### **Applications cliniques de Ret-He**

##### **a) Insuffisance rénale chronique**

Les patients présentant une affection rénale développent fréquemment une anémie sévère, dont l'une des causes les plus fréquentes est une carence en érythropoïétine (EPO). L'EPO est une hormone produite par les reins, dont la fonction est de stimuler la

production d'érythrocytes dans la moelle osseuse. En cas d'atteinte rénale chronique, les reins ne sont plus capables d'excréter de façon adéquate les déchets dans l'urine, mais ils perdent également le mécanisme de contrôle normal par lequel l'EPO est produite dans les reins, car la capacité à transporter l'oxygène chute, faisant par là-même chuter la valeur de l'hémoglobine. Le plus souvent, il faudra que ces patients reçoivent de l'EPO sous forme médicamenteuse pour que le taux d'hémoglobine soit supérieur à 11 g/dl (valeur cible requise pour maintenir une qualité de vie raisonnable pour les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique). Cependant, la plupart des patients répondent peu, voire pas du tout, et ce, même après plusieurs semaines de traitement. Ceci n'est pas dû à la résistance de l'EPO, mais à une insuffisance en fer adéquat pour soutenir l'érythropoïèse stimulée par l'EPO dans la moelle osseuse. Les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique finiront par avoir besoin d'une hémodialyse, associée à une perte de fer tout au long du circuit de dialyse. Si ces patients EPO reçoivent une supplémentation en fer avec l'EPO, on observe une réponse spectaculaire, avec une normalisation de la réticulocytose et une augmentation de l'hémoglobine.

L'EPO est un médicament très cher et n'est pas sans effets secondaires. Par conséquent, il serait important de pouvoir déterminer quels patients requièrent une supplémentation en fer préalable. Généralement, les médecins ont utilisé des analyses classiques du fer pour ce faire. Cependant, la mesure de l'hémoglobine des réticulocytes étant devenue un paramètre systématique, plusieurs études ont montré que le paramètre Ret-He était supérieur à la ferritine et à la saturation de la transferrine. Le principal problème lorsque l'on utilise la ferritine et la saturation de la transferrine est qu'il existe une variation quotidienne considérable. Leur utilité clinique est donc très limitée pour surveiller le bilan en fer et pour déterminer si un patient doit ou non prendre une supplémentation en fer. D'un autre côté, Ret-He est un paramètre stable qui s'est révélé être supérieur aux analyses du fer à cet égard.<sup>2</sup>

#### **b) Enfants**

L'anémie par carence en fer est très fréquente chez les jeunes enfants. L'OMS a estimé qu'en Afrique, environ 50 % des enfants d'âge préscolaire souffrent d'une

carence en fer. Des analyses du fer ne sont cependant réalisées que si l'enfant a développé une anémie microcytaire manifeste. La problématique est alors double. Tout d'abord, les analyses du fer sont souvent peu concluantes, notamment s'il existe une infection concomitante, ce qui est fréquent chez les enfants. Ensuite, il peut s'écouler plusieurs mois avant que la microcytose, qui déclenche la demande d'analyses du fer, ne se manifeste ; or, pendant ce temps, le développement cognitif de l'enfant est affecté en raison du manque de fer. Le paramètre Ret-He s'est révélé être extrêmement précieux dans cette situation car les taux seront bas un à trois jours après une carence en fer qui apparaît pour la première fois. Il constitue donc un marqueur précoce extrêmement sensible de la carence en fer pouvant être obtenu dans le cadre d'une numération globulaire. L'avantage de ce marqueur est qu'aucun échantillon de sang supplémentaire n'est nécessaire pour l'analyse, ce qui permet de ne pas affaiblir davantage l'enfant déjà anémié. En outre, Ret-He s'est révélé être le facteur prédictif de carence en fer le plus fort chez les enfants, montrant ainsi sa supériorité par rapport aux tests biochimiques sur le fer.<sup>3</sup>

En raison de la difficulté à obtenir suffisamment de sang pour les analyses chez les enfants et le caractère relativement peu concluant des résultats des analyses du fer, nombre d'enfants reçoivent tout simplement une supplémentation en fer sans confirmation du diagnostic. Cela peut se révéler problématique. Étant donné qu'il faut du temps pour que les indices érythrocytaires répondent, la pratique courante consiste à renvoyer les mères chez elles avec les médicaments nécessaires pour un mois de traitement. Cependant, si la cause de l'anémie n'est pas la carence en fer, l'enfant ne sera alors pas traité, avec une aggravation de l'anémie pendant tout ce temps. En outre, les selles deviennent très noires et présentent une odeur désagréable ; les mères arrêtent parfois le médicament, tout spécialement si elles ont du mal à le faire prendre à l'enfant (ce qui est souvent le cas, car ce médicament a mauvais goût). Lorsque l'on utilise le paramètre Ret-He comme test de dépistage, un traitement à base de fer devrait être donné à titre d'essai aux enfants présentant une valeur basse uniquement, puis de nouvelles analyses devraient être effectuées sur ces enfants trois jours plus tard. Les enfants chez qui Ret-He s'est normalisé doivent

continuer à prendre le traitement, tandis que des analyses complémentaires doivent être menées sur les enfants qui n'ont pas répondu, afin de déterminer les causes de l'anémie.

### **c) Carence en fer non rénale chez les adultes**

Des résultats similaires ont été démontrés dans des populations adultes chez qui l'absence de réserves en fer de la moelle osseuse a été utilisée comme référence pour définir la carence en fer.<sup>4</sup>

### **d) Transfusion sanguine**

Le paramètre Ret-He s'est également révélé être précieux pour réduire les besoins en transfusion sanguine pour les patients subissant une intervention chirurgicale majeure généralement associée à une perte de sang significative. Dans la pratique, il est fréquent de stimuler la production endogène d'érythrocytes pour augmenter le taux d'hématocrites avant l'intervention chirurgicale chez ces patients afin de minimiser le besoin en transfusion sanguine. De l'EPO, associée à du fer par voie orale, est administrée trois semaines avant l'intervention chirurgicale et les patients sont observés afin de détecter toute augmentation de l'hémoglobine et surveillés à l'aide d'analyses du fer. En utilisant cette approche, environ un tiers des patients ne répond pas, car la carence en fer qui limite la vitesse de production des érythrocytes n'est pas détectée ; par conséquent, ces patients nécessitent tout de même une transfusion sanguine. En revanche, lorsque Ret-He est utilisé pour surveiller ces patients de façon hebdomadaire pendant la phase préopératoire, et que les patients qui présentent une chute du paramètre Ret-He reçoivent une supplémentation en fer supplémentaire par voie intraveineuse, pratiquement tous les patients répondent de façon adéquate, ce qui réduit significativement les besoins en transfusion sanguine. Cette approche a démontré que les besoins en transfusion sanguine pour les patients subissant une intervention chirurgicale majeure peuvent être réduits de plus de 80 %. Non seulement cela est plus sûr pour le patient, mais cela permet également de conserver les produits sanguins, qui constituent des ressources rares, chaque fois que cela est possible.

### **Message à retenir**

Le paramètre Ret-He est un paramètre extrêmement précieux qui ne présente pas de variabilité sur 24 heures, et qui est facile à mesurer car il est obtenu dans le cadre de la numération globulaire sur un analyseur Sysmex X-class. Il est supérieur aux analyses biochimiques classiques du fer dans le diagnostic de la carence en fer dans un grand nombre de situations cliniques. Un simple traitement à base de fer à titre d'essai et une mesure répétée de l'indice Ret-He au bout de trois jours permettront de distinguer avec précision la carence en fer véritable et la carence en fer fonctionnelle, ce qui permettra à son tour d'identifier les patients qui doivent recevoir une supplémentation en fer et de ne pas mettre en danger les autres.

### **References**

1. Thomas C and Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clinical Chemistry* 2002, 48(7):1066-86.
2. Van Wyck DB, Alcorn Hand Gupta R. Analytical and Biological variation in measures of anaemia and iron status in patients treated with maintenance haemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2010, 56(3): 540-6.
3. Baker RD, Greer FR and The Committee on Nutrition. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron deficiency anaemia in infants and young children. *Pediatrics* 2010, 126:1010-50.
4. Brugnara C, Schiller B and Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) and assessment of iron deficient states. *Clinical laboratory Haematology*. 2006, 28(5):303-8.
5. Mast AE, Blinder MA, Qing L, Flax S and Dietzen DJ. Clinical utility of reticulocyte haemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 2002, 99(4):1489-91.

*Compilé par*  
Dr Marion Münster