**Détection de l’hémoglobinurie paroxystique nocturne par cytométrie en flux : Validation**

C. Louis, Dr. Sci. J. Foguenne, Dr. A. Keutgens, Pr. F. Tassin, Pr. A. Gothot.

Laboratoire d’Hématologie, Unilab-Lg, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

**INTRODUCTION:** L’Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne (HPN) est une maladie rare et acquise due à la mutation d’un gène codant la protéine glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) au niveau d’une ou de plusieurs cellule(s) souche(s) hématopoïétique(s). Cette mutation rend les globules rouges plus sensibles à l’action lytique du système du complément. Elle est recherchée principalement dans le cadre d’une anémie hémolytique acquise.

Dans un contexte clinique, la recherche de cellules GPI déficientes à une sensibilité de 1 % est suffisante. Dans le cadre d’études prospectives, une sensibilité de à 0.01 % est recommandée.

La validation de la détection et de l’identification d’une population GPI déficientes par cytométrie en flux a été réalisée sur un FacsCanto2 de chez Becton Dickinson selon la norme standard ISO15189 et inclut les paramètres suivants: répétabilité (précision intra-essai), incertitude de mesure, limites de détection et de quantification (sensibilité), interférences dans l’analyse, linéarité des mesures au cytomètre et stabilité de l’échantillon. Le diagnostic d’HPN s’effectue suivant les recommandations établies par *Borowitz et al. (Cytometry B, 78B-211, 2010).*

**MATERIELS ET METHODES**: Les recommandations incluent un panel d’anticorps contenant d’une part ceux servant à identifier les différentes lignées (neutrophiles et monocytes) et d’autre part des anticorps dirigés contre des protéines GPI-dépendantes (CD 24 et CD 14). En plus des anticorps, le protocole utilise une variante inactive d’une aérolysine (FLAER) qui se lie directement à l’ancre GPI.

**RESULTATS:** La sensibilité de la méthode a été définie par le bruit de fond de 30 échantillons sains. La limite de détection (D) atteint 0,006 % pour les neutrophiles GPI-déficients et 0,009 % pour les monocytes GPI-déficients. La population éosinophile ne cause pas d’interférence dans la détection de cellules GPI déficientes (D = 0,008 %) contrairement aux granulocytes immatures (D = 0,011 %).

**CONCLUSION:** La détection de l’HPN par cytométrie en flux peut être validée selon la norme ISO15189 en suivant les recommandations internationales publiées. Toutefois des paramètres supplémentaires pourront être déterminés par la suite afin de compléter le dossier de validation, en particulier les limites de linéarité.

Céline Louis