

Diagnostic biologique de la sphérocytose héréditaire en 2024

Véronique Picard, MCU PH

Hématologie biologique – Génétique moléculaire
CHU Bicêtre
Université Paris Saclay

*Journées du Collège d'Hématologie
9 décembre 2024*

La sphérocytose héréditaire (SH) :

la plus fréquente des pathologies constitutionnelles de la membrane du GR

Pathologie de membrane	Répartition géographique	Prévalence	Transmission
• Sphérocytose héréditaire	Europe	1/1000 à 1/5000	75% dominant, 20% de novo, 5% récessive
• Elliptocytose héréditaire • pyropoikilocytose	Afrique, Europe	variable	- dominante, asymptomatique dans sa forme classique - récessive, forme sévère d'elliptocytose
• Stomatocytose héréditaire	Europe	Rare (1/50 000)	dominante
• Ovalocytose mélanésienne	SE asiatique Reunion, Comores	rare	dominante

+

• <i>Dysérythropoïèse congénitale de type II (CDA2)</i>	<i>pas de préférence</i>	<i>très rare</i>	<i>toujours récessive</i> Pas réellement une maladie de la membrane du GR mais présentation proche, → diagnostic différentiel de la sphérocytose héréditaire
---------------------------------------------------------	--------------------------	------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

La sphérocytose héréditaire (SH) :

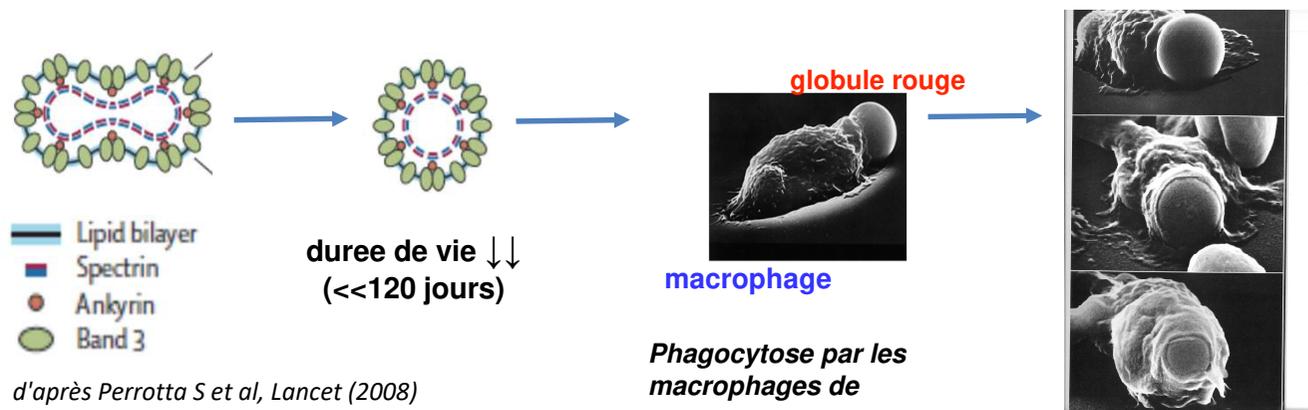
la plus fréquente des pathologies constitutionnelles de la membrane du GR

Physiopathologie :

Maladie génétique due à un défaut d'un des gènes codant une protéine du cytosquelette ou de la membrane erythrocytaire :

-> Défaut d'accrochage entre le cytosquelette érythrocytaire et la membrane lipidique

--> diminution du rapport Surface/volume -> sphérocytes



La SH : une hémolyse tissulaire chronique de sévérité très variable

Classification	Trait	Mild	Moderate	Severe
Haemoglobin (g/l)	Normal	110–150	80–120	60–80
Reticulocyte count, %	Normal (<3%)	3–6	>6	>10
Bilirubin (µmol/l)	<17	17–34	>34	>51
Eber, 1990, J Pediatrics	diagnostic difficile	env 25% des cas hémolyse compensée splénomégalie modérée diagnostiquée à tout age	60 à 70 % des cas diagnostiquée dans l'enfance, Splenectomie si nécessaire	env 10 % des cas forme sévère diagnostiquée dès les premiers mois, nécessitant transfusions et splénectomie

-> Hémogramme, réticulocytes, marqueurs biochimiques d'hémolyse

- **Hb** normale ou diminuée
- **VGM** normal ou peu diminué (>70 fL chez l'adulte)
- **CCMH** normale haute ou élevée (> 36%)
- **RDW** >15%
- **réticulocytes** >120 ->500 G/L sauf erythroblastopénie ou splenectomie
- sur ADVIA 2120
- cellules hyperdenses > 4% SSI conservation correcte du prélèvement
- VGM réticulocytes < 100 fL (Normales > 105 fL)

- **Haptoglobine diminuée à effondrée +++**
 - **signe le plus sensible (95-100%) et spécifique d'hémolyse**
 - augmente en cas de syndrome inflammatoire, dans ce cas le resultat peut être faussement normal
- **Bilirubine libre** élevée +/-
- **LDH** augmentées
 - non spécifique
 - NB : Si tres elevee > 1000 : en faveur d'une hémolyse intravasculaire

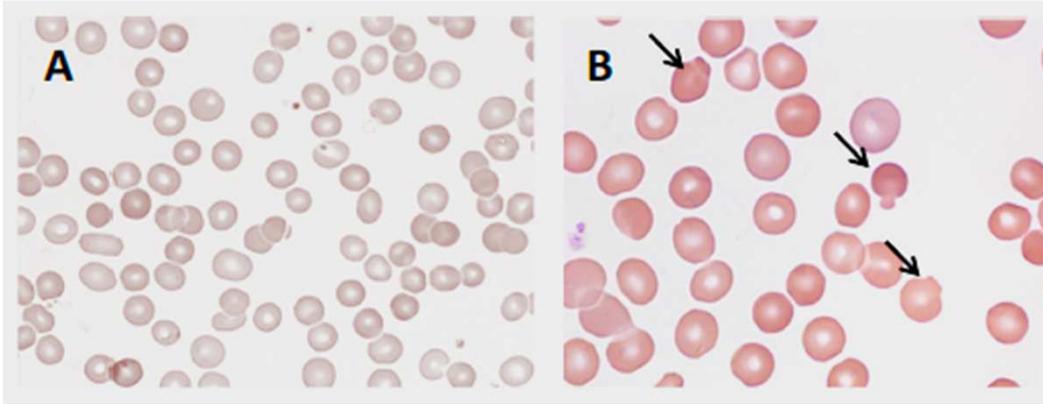
Anémie régénérative - ou hyperreticulocytose sans anémie (NB : faire les reticulocytes meme sans anemie !)

+ **marqueurs d'hémolyse positifs**

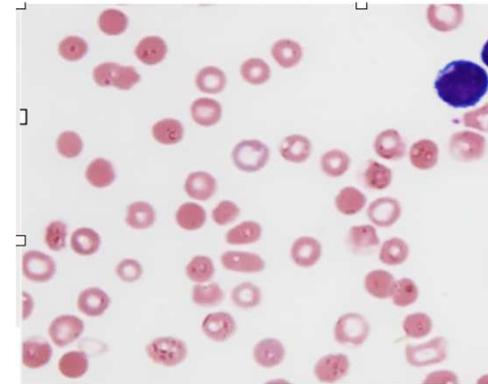
-> **anémie hémolytique**

-> test de Coombs , ici négatif

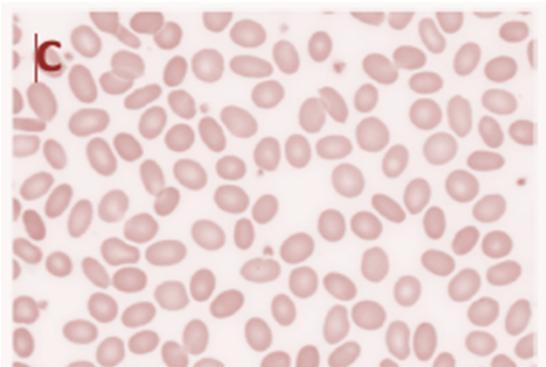
Morphologie des GR dans les pathologies de membrane



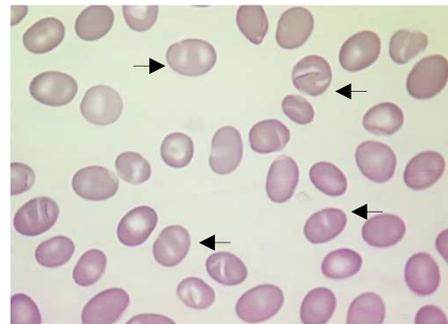
Sphérocytose héréditaire



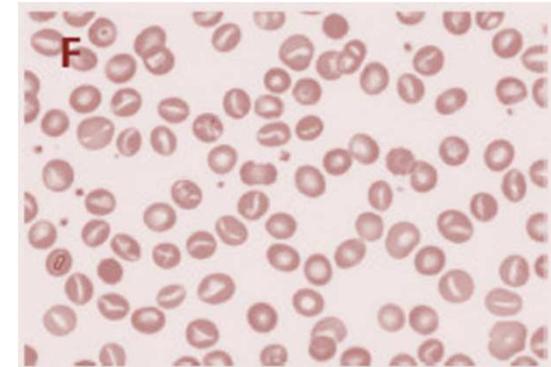
Anémie hémolytique
auto immune



Elliptocytose hereditaire



Ovalocytose
melanesienne



Stomatocytose hereditaire

QCM 1

Quel test de dépistage recommander en cas de suspicion de sphérocytose hereditaire

- A. le test de résistance osmotique
- B. le test EMA - test de de liaison des globules rouges au 5'éosine-maléimide
- C. l'ektacytometrie
- D. l'étude en génétique moléculaire

Réponse : B

Diagnostic biologique de la SH les examens spécialisés

Test EMA (cytometrie en flux) pratique courante

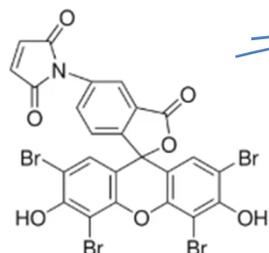
Tests fonctionnels réalisés par quelques labos spécialisés

- Test de résistance osmotique 'traditionnel' (très peu pratiqué)
- FOF : test de fragilité osmotique en cytometrie en flux
- Pink test , Acidified glycerol lysis test (AGLT)
- Ektacytométrie

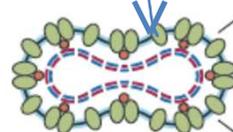
Biologie moléculaire en 2^e ou 3^e intention réalisés par les labos spécialisés

Electrophorèse des protéines de la membrane (seulement à Bicêtre)

Le Test EMA (5'Eosine Maleimide)



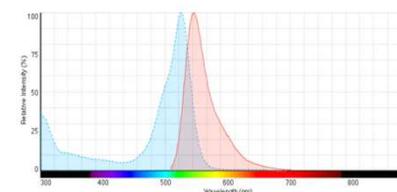
5'Eosine Maleimide
(MJ King, BJH, 2000)



se lie à 80% la Lysine 430 de la Bande 3



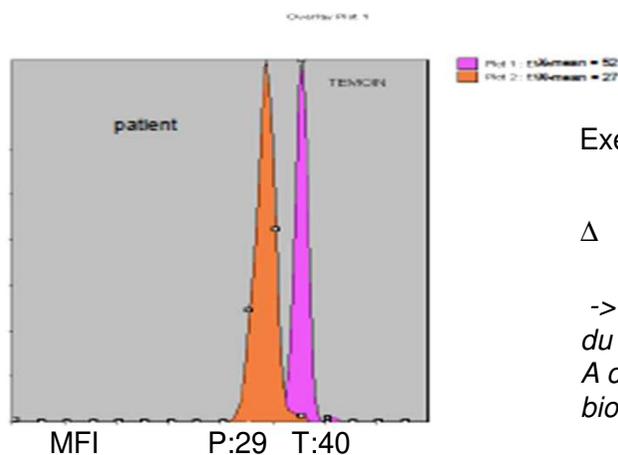
Spectre fluorescent



Le complexe fluoresce dans le vert
(zone FITC)

En cytométrie en flux

- Median fluorescence intensity (MFI) des GR pour 3 à 6 témoins -> MFI moyenne des Témoins T
- Median fluorescence intensity (MFI) des GR du patient P
- **Calcul de la diminution relative de fluorescence patient vs témoin** $\Delta \% = [(T - P)/T] * 100$



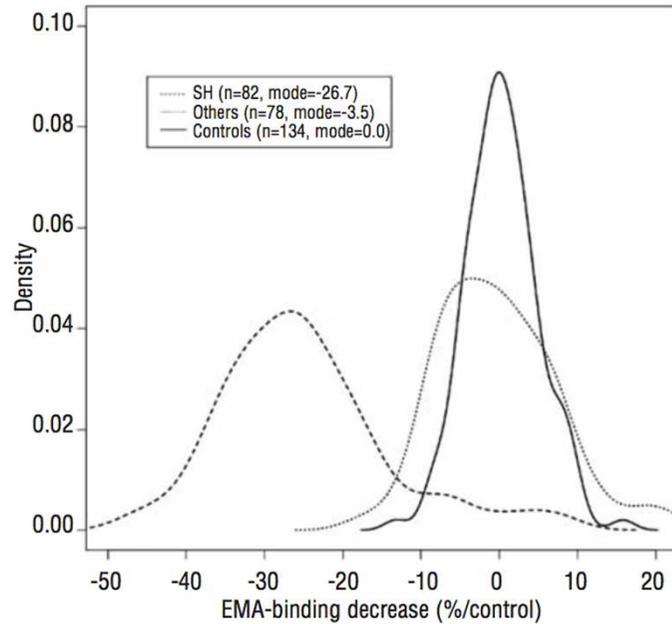
Exemple : Moyenne témoins : **40**
patient : **29**

Δ : **27%** : diminution significative de la liaison de l'EMA aux GR

-> en faveur d'une SH ou d'une autre anomalie constitutionnelle de membrane du GR.
A confronter à la morphologie erythrocytaire et au contexte familial, clinique et biologique

Testing for hereditary spherocytosis: a French experience

Mayeur Rousse et al, Haematologica, 2013



Interprétation

- $\Delta < 11\%$ SH peu probable
- $11 > \Delta > 15\%$ zone grise
- $\Delta > 16\%$ en faveur de sphérocytose héréditaire

Table 1. Results of the EMA binding test in red cell membrane defect-related or non related hemolytic syndromes.

% decrease in MFI	SH	CDAII	EH/PPK	SAO	Xerocytosis	Others	Controls
<11	9 (11%)	1	0	0	16	74 (95%)	133
11 to 15	3 (4%)	1	4	0	0	3 (4%)	1
16 to 21	11 (13%)	4	3	0	0	1 (1%)	0
>21	59 (72%)	1	1 (PPK)	4	0	0	0
Total	82	7	8	4	16	78	134

SH EMA negative

Autres pathologies du GR EMA positive

MFI: mean fluorescence intensity; HS: hereditary spherocytosis; CDAII: congenital dyserythropoietic anemias type II; HE: hereditary elliptocytosis; PPK: pyropoikilocytosis; SAO: Southeast Asian ovalocytosis; others: hemolytic syndromes with normal ektacytometry.

Test EMA - Caractéristiques

- Bonne sensibilité et spécificité (> 85 %) , robuste et reproductible
- Faibles quantités de sang nécessaire (50 µl)
- conservation -> J5 à 4°C
- pas d'interférence en cas d'anticorps fixes sur les GR → utile chez le nouveau né
- discriminant AHAI vs SH : test EMA normal dans les anémies d'origine immunologiques (AHAI...)
- Accessibilité - réalisé aussi par les laboratoires privés - et coût modéré

MAIS

- E149 , RIHN 40 – pas dans la nomenclature NABM !
- **examen de la morphologie des GR au frottis indispensable pour le diagnostic de SH car**
 - **faux positifs du test EMA**
 - ovalocytose melanesienne
 - elliptocytose severe : pyropoikilocytose
 - CDA2 (dysérythropoïèse congénitale de type 2)
 - **faux négatifs du test EMA**
 - env 10% des vraies SH
- Peu standardisé : témoins maison, pas d'EEQ - EIL français, EIL européen
- En défaut si transfusion récente

En résumé :

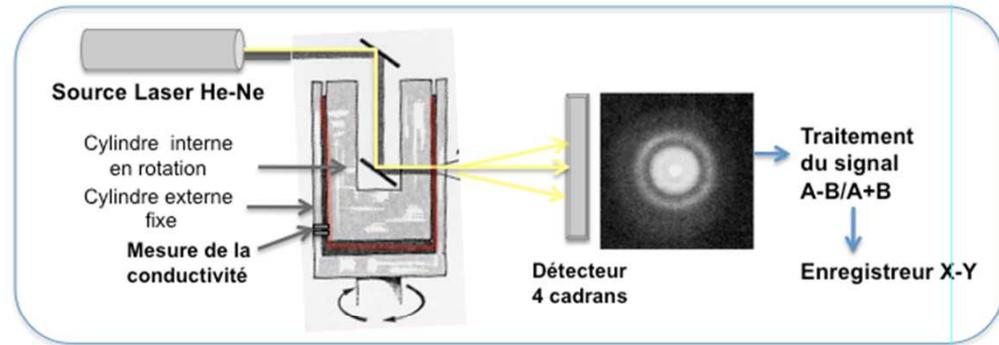
Bonne méthode diagnostique de première intention de la SH -> test de dépistage +++

- si histoire familiale connue de SH : {NFS + réticulocytes + frottis + test EMA} suffit au diagnostic si les résultats sont typiques

MAIS

- ne fait pas le diagnostic à lui seul : morphologie érythrocytaire toujours nécessaire
- en absence d'histoire familiale de SH : un test de confirmation est utile : érythrocytométrie ou génétique

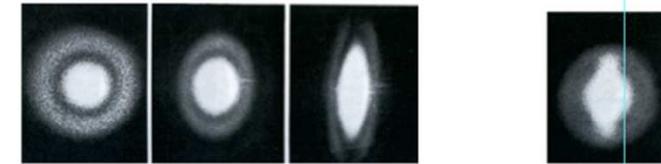
Ektacytométrie : le test fonctionnel de référence



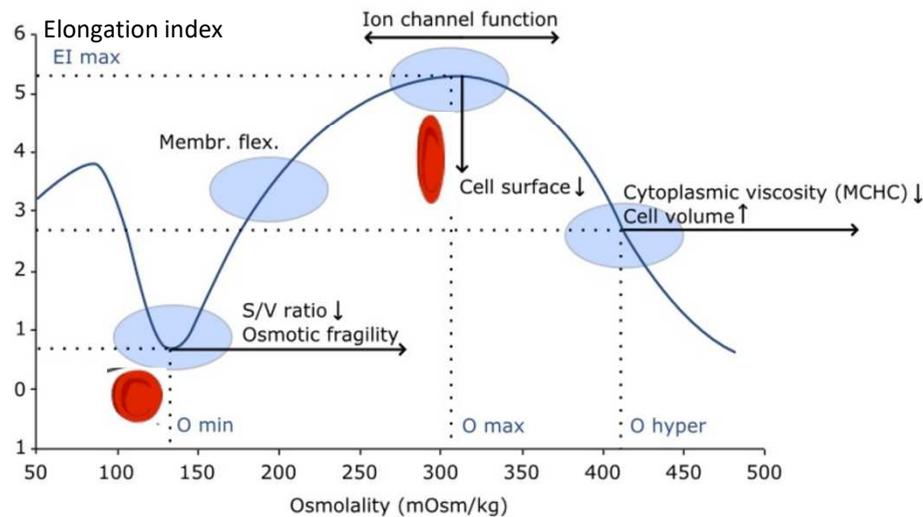
Forces de cisaillement



Sphérocytose

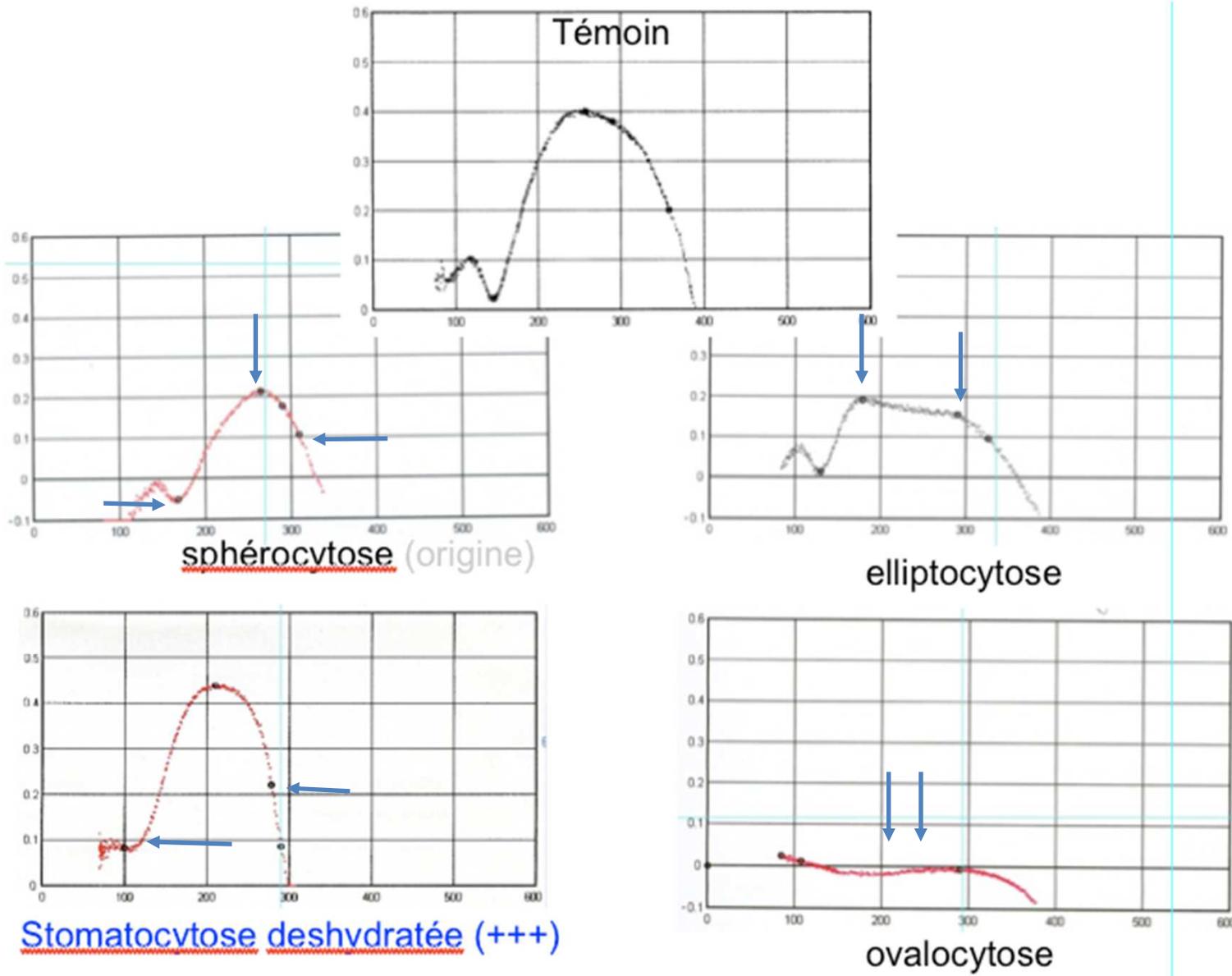


D'après Dr Marcel Bessis et al, Réinterprétation des frottis sanguins, Masson ed



NB : méthode mise au point à Bicêtre par Marcel Bessis, Hématologue, dans les années 1980

Ektacytométrie – Profils pathologiques



Ektacytométrie - Caractéristiques

- Très bonne sensibilité et spécificité (> 90%)
- diagnostic différentiel des autres anomalies membranaires : elliptocytose, ovalocytose, stomatocytose
- rapidité (env 15 min)
- considéré comme la méthode 'fonctionnelle' de référence
- accrédité COFRAC

MAIS

- E149 , RIHN 300 – pas a la NABM
- peu accessible : 1 seul labo en France en diagnostic (Bicêtre)
- **Pre analytique contraignant** : nécessite des GR 'frais' (<48h, 4°C)
- en défaut si test de Coombs + ou IFM ABO ou si hémoglobinopathie associée
- en défaut si transfusion récente

Indications

- diagnostic de sphérocytose héréditaire sans histoire familiale (de novo ou récessif)
- présentation atypique de SH, ex : CCMH normale, peu régénérative...
- suspicion d'anomalie de membrane du GR autre que la SH
- Hémolyse sans étiologie

Les gènes en cause dans la sphérocytose héréditaire

Protéine	gène	exons	fréquence	Transmission	Forme clinique	Frottis
Ankyrine	<i>ANK1</i>	45	30-40 %	dominant, de novo	modérée	sphérocytes
Beta spectrine	<i>SPTB</i>	30	30-40%	dominant, de novo	modérée	sphérocytes, acanthocytes
Bande 3	<i>SLC4A1</i>	20	25 %	dominant	atténuée	sphérocytes, Champignons, stomatocytes
Alpha spectrine	<i>SPTA</i>	50	5%	récessif	sévère	sphérocytes, +/- elliptocytes qq acanthocytes
Protéine 4.2	<i>EPB42</i>	13	Japon 50% Europe <1%	récessif	modérée	sphérocytes, ovalocytes

- Plusieurs gènes de grande taille, nombreux exons (20 à 50)
- Nombreux polymorphismes dans ces gènes
- Les mutations identifiées sont souvent privées, peu de mutations récurrentes
- Le génotype peut être complexe : associations de plusieurs mutations dans 1 ou plusieurs gènes concernés

L'interprétation des résultats est parfois complexe : -> le génotype doit être confronté au phénotype érythrocytaire ++

Biologie moléculaire des hémolyses constitutionnelles

- Panel NGS ciblé 'Anémies/hémolyses constitutionnelles' = Enzymopathies, membranopathies, CDAs ...
 - panel EKTA Orphanet, > 30 gènes
 - Liste des gènes du **panel Membranopathies, enzymopathies érythrocytaires, dysérythropoïèse congénitale de type I (CDA1) et 2 (CDA2), variants α et β globine** :
 - **ABCB6** (NM_005689.4), **ABCG5** (NM_022436.2), **ABCG8** (NM_022437.2), **AK1** (NM_000476), **ALDOA** (NM_001243177), **ANK1** (NM_001142446), **BPGM** (NM_001724), **CDAN1** (NM_NM_138477), **EPB41** (NM_001166005), **EPB42** (NM_000119), **G6PD** (NM_000402), **GPI** (NM_000175), **HBA1** (NM_000558), **HBA2** (NM_000517), **HBB** (NM_000518), **HK1** (NM_033497), **KCNN4** (NM_002250), **KLF1** (NM_006563.3), **NT5C3A** (NM_001002010), **PFKM** (NM_001166686), **PGK1** (NM_000291), **PIEZO1** (NM_001142864), **PKLR** (NM_000298), **RHAG** (NM_000324) **SEC23B** (NM_001172745), **SLC2A1** (NM_006516) ; **SLC4A1** (NM_000342) ; **SPTA1** (NM_003126); **SPTB** (NM_001024858) **TPI1** (NM_000365), **UGT1A1** (NM_000463)
- , recherche de mutations des zones codantes (exons), moins performant sur les deletions, n'explore pas les introns, les promoteurs ...

Interet

- exploration 'à l'aveugle' de toute cause d'anémie hémolytique constitutionnelle - > utile en cas d'errance diagnostique
- indispensable dans les stomatocytoses , les deficits enzymatiques hors G6PD, les dyserythropieses congenitales
- Utile en cas de transfusions repetées
- Nb : à l'heure actuelle : pas d'indication de Diagnostic Pre Natal dans la SH

MAIS

- limitations: plusieurs grands genes polymorphes, mutations privées ++, l'interprétation nécessite de connaître le phénotype erythrocytaire
- Dans la sphérocytose hereditaire , dans notre experience sensibilité < Ektacytometrie
- seulement en milieu hospitalier
- N352 RIHN 8170 (> 2000 €)
- délai de rendu du résultat (>1 mois, parfois plusieurs mois)

QCM 2

Concernant la sphérocytose héréditaire, quelles propositions sont vraies

- A. Elle est rare chez les Européens
- B. Elle peut être diagnostiquée à tout age
- C. Le test EMA seul suffit toujours pour en faire le diagnostic
- D. L'ektacytométrie ou l'étude génétique est indiquée en cas de suspicion de sphérocytose héréditaire sans histoire familiale

Réponse : B, D

Anémies acquises ≈ anémies extra corpusculaires

Causes Immunes (AHAI, Allo Immunisation)
Toxiques (Disulone, toxines)
Infectieux (paludisme)
Mécaniques (SHU, PTT...)

Anémies constitutionnelles ≈ anémies corpusculaires

Anomalie de la membrane du GR (sphérocytose, elliptocytose, ...)
Anomalie de l'Hb (drépanocytose, Sd Thalassémiques, porphyries)
Anomalie enzymatique érythrocytaire (G6PD, PK ..)
Dysérythropoïèses congénitales

Autres : Anomalie acquise du GR : HPN, pycnocytose néonatale, ALPS, elliptocytose acquise (SMD)
Anémie sidéroblastique - Maladie de Wilson

1 / ATCD personnels et familiaux et origine géographique , consanguinité, transfusion, ictère, splénomégalie, lithiase vésiculaire, surcharge martiale, ictère/anémie/oedème en période néonatale, hémolyse chronique ou épisodes aigus, fréquence, contexte ...

2/ Hémogramme + réticulocytes + bilan d'hémolyse (LDH, haptoglobine, bilirubine), bilan hépatique (ASAT, ALAT, γgt, PAL)

3/ test de Coombs érythrocytaire

→ + → **AHAI, Allo-immunisation**

↓ -

4/ Hémogramme avec examen morphologique des GR sur lames +++ (Schizocytes, sphérocytes, elliptocytes, pycnocytes, stomatocytes, drépanocytes, cellules cibles, corps de Heinz ...), bilan martial

prioriser selon anamnèse

Electrophorèse de l'Hb
Dosage G6PD et PK
Test de dépistage de sphérocytose héréditaire : EMA

→ + → **Hémoglobinopathies les plus fréquentes**
Enzymopathies fréquentes : déficit en G6PD ou PK
Sphérocytose héréditaire

↓ -

5/ Test de Coombs étendu

Recherche clone HPN
Ektacytométrie +/- Electrophorèse des protéines de mbr du GR

→ + → **AHAI non diagnostiquée initialement**
Clone HPN
Sphérocytose EMA négative, Elliptocytose, Stomatocytoses, Ovalocytose, pycnocytose
Suspicion de dysérythropoïèse congénitale de type 2

↓ -

6/ A choisir selon l'orientation :

Etude des gènes de globine
NGS ciblé 'Anémies/ Hémolyses constitutionnelles'
myélogramme (+/- coloration Perls)
dépistage ALPS (lymphocytes T4/T8 double négatifs, dosage Vit B12)
métabolisme du cuivre (dosage ceruleoplasmine, Cu sanguin, urinaire), plombémie
Recherche de porphyrie

→ + → **Enzymopathies rares (déficit en GPI, TPI, P5N, GSS.)**
Stomatocytoses autres
Dysérythropoïèse congénitale de type 1 ou de type 2
Suspicion syndrome lymphoprolifératif auto-immun (ALPS)
Anémies sidéroblastiques
Maladie de Wilson,
Porphyries ...

7/ **Genome** (Seqoia ou Auragen après validation en RCP)

CONCLUSION

- rôle du biologiste essentiel pour le diagnostic des anémies hémolytiques
- l' examen du frottis sanguin garde tout son intérêt ici, expertise cytologique ++
- Dans la sphérocytose héréditaire : pas 1 seul test diagnostic
combinaison de plusieurs arguments (clinique et biologie, histoire familiale...)
test EMA + morphologie érythrocytaire et /ou test fonctionnel
- Développement rapide des méthodes de génétique moléculaire, utiles, complémentaires du phénotype pour les anomalies de membrane, à utiliser avec discernement

Références

- **PNDS** Diagnostic de la sphérocytose héréditaire et des autres pathologies de la membrane érythrocytaire, Coord Dr C. Guitton, juillet 2021, sous l'égide de la HAS, libre accès
- **Revue 'Horizons hématologie'** , 2 n° consacrés aux pathologies du Globule rouge, un en 2024

Et **Site internet Viskali manuel prelevement APHP Bicêtre** <https://hups.manuelprelevement.fr>
Ektacytometrie et
genetique membranopathies



Dr Guitton
Hématologie
Pédiatrique,
Hôpital Bicêtre



Pr Garçon
Hématologie Adulte,
CHU Amiens,
Hôpital Bicêtre



**Hematology / Biochemistry / Genetic Labs, Bicêtre
Pediatry, Hematology Departmt**

Centre de Référence Filière MCGRE

Pr Da Costa
Dr Barreau
Dr Lebigot
Dr Nasr

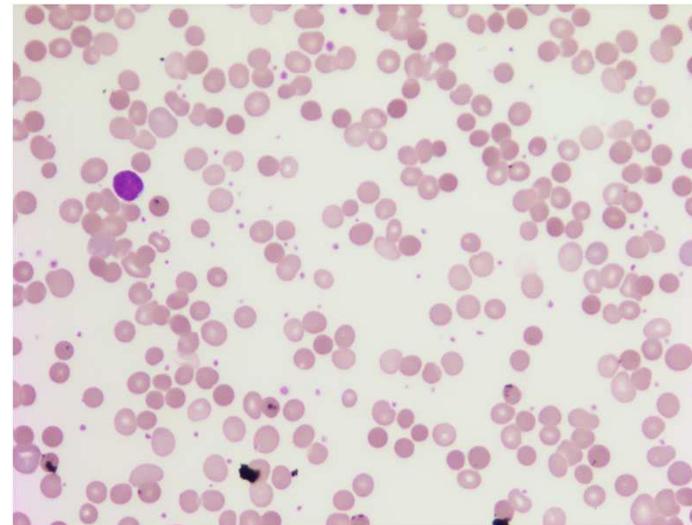
Pr Loic Garçon
Dr C Guitton
Dr C Falguiere
Dr C Chantalat

Dossier 1 - Mr RN, 37 ans

- diagnostic de SH à 6 mois , splénectomie partielle et cholecystectomie à 11 ans.
- de 34 à 36 ans, plusieurs hospitalisations en urgence pour douleurs abdominales, ictere, cytolyse (ASAT 3N), hemolyse persistante, —> lithiases des voies biliaires intra et extra hépatiques, dont un calcul enclavé
- > 36 ans : extraction du calcul sur la VBP, on prévoit vaccination + totalisation de la splenectomie

37 ans

GB	*13.19 x10 ⁹ /L		V	4.00-10.00
GB Bruts	13.19 x10 ⁹ /L		V	
GR	3.55 x10 ¹² /L		V	4.20-5.90
HB	10.3 g/dL		V	13.0-17.0
HT I/1 SG	0.29 L/L		V	0.40-0.54
VGM	81.5 fL		V	82.0-98.0
TGMH	29.1 pg		V	27.0-32.0
CCMH	35.6 g/dL		V	32.0-36.0
IDR	18.9 %		V	<15.0
PLA	634 x10 ⁹ /L		V	150-400
VMP	*7.9 fL		V	7.1-9.1
GR Hyperdenses%	27.50 %		V	
NEU%	75.5 %		V	
NEU	9.96 x10 ⁹ /L		V	1.50-7.00
EOS%	1.5 %		V	
EOS	0.20 x10 ⁹ /L		V	<0.50
BAS%	1.1 %		V	
BAS	0.15 x10 ⁹ /L		V	<0.20
LYM%	17.2 %		V	
LYM	2.27 x10 ⁹ /L		V	1.00-4.00
MONO%	4.7 %		V	
MONO	0.62 x10 ⁹ /L		V	0.10-1.00
RET%	7.2 %		V	
RET	256.80 x10 ⁹ /L		V	20.00-100.00
HAPTO	<0.07 g/L		V	0.30-2.00
BILT	75 μmol/L		V	<17
BILC	*13 μmol/L		V	<6
PAL	99 U/L		V	56-152
ASAT PP	35 U/L		V	<50
ALAT PP	38 U/L		V	<50
GGT	25 U/L		V	<61
LDH	323 U/L		V	125-250



Test de liaison de l'éosine 5' maléimide (EMA)

Intensité de fluorescence témoin	37.2	
Intensité de fluorescence patient	26	
Diminution Intensité de fluorescence	30	%
resultat sgnificativement diminué ⁽¹⁾		

Ektacytométrie en gradient osmolaire

Point hyper	392	mOsmol/kg
Point hypo	154	mOsmol/kg
Point max	0.460	

Profil ektacytométrique typique associant une diminution de la déformabilité maximale, une fragilité osmotique et une deshydratation des GR.

Conclusion : ces résultats confirment la sphérocytose héréditaire

Question ? qu'attendre sur des résultats de biologie après la splénectomie totale

Dossier 2 - bebe RT, fils de Mr RN

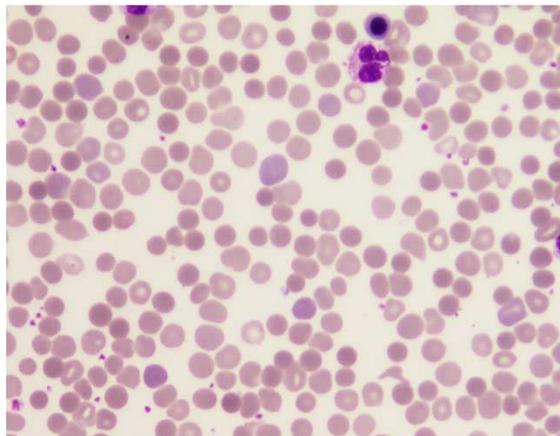
3^e enfant , 1 fille indemne, 1 fils présentant la SH.

Diagnostic neonatal :

-pas d'anémie, ictère precoce

A la naissance (sang de cordon)

Contexte Cyto	Etude familiale @	?	?	?)
GB	*24.78 x10⁹/L	?	?)	10.00-25.00
GB Bruts	24.78 x10⁹/L	?	?)	
GR	4.94 x10¹²/L	?	?)	3.70-6.10
HB	16.7 g/dL	?	?)	13.5-21.7
HT I/SG	0.50 L/L	?	?)	0.48-0.64
VGM	100.8 fL	c	?)	95.0-114.0
TGMH	33.8 pg	c	?)	32.0-39.0
CCMH	33.5 g/dL	?	?)	32.0-37.0
IDR	20.9 %	1	?)	<15.0
PLA	399 x10⁹/L	c	?)	150-400
VMP	*8.9 fL	?	?)	7.1-9.1
GR Hyperdenses%	7.30 %	?	?)	
RET%	10.9 %	c	?)	
RET	537.40 x10⁹/L	c	?)	20.00-100.00
VMP	112.4 fL	c	?)	



Etude de la membrane des Globules rouges :

Contexte	Etude familiale (SH paternelle)
Condition de transport du prélèvement	Conforme
Commentaire	nombreux spherocytes

Test de liaison de l'éosine 5' maléimide (EMA)

Intensité de fluorescence témoin	39.6	
Intensité de fluorescence patient	28.6	
Diminution Intensité de fluorescence	28	%

Navios Beckman Coulter

Conclusion

Hyperreticulocytose franche, on note un excès de GR hyperdenses, la morphologie érythrocytaire, les EMA sont typiques.

Au total, l'ensemble signe une sphérocytose héréditaire, dans un contexte familial.

F. Picard

Conclusion : sphérocytose héréditaire en contexte familial

J 22 : transfusion Hb 59 g/L, reticulocytes 380 G/L

J 50 : 2^e transfusion Hb 64 g/L, reticulocytes 300 G/L

J 92 : 3^e transfusion Hb 65 g/L, reticulocytes 340 G/L

Introduction de EPO pdt 3 mois

Dossier 2 – suite- bebe RT, 19 mois en juillet

	07/07			03/07		24/04	
GB	*7.46 x10 ⁹ /L	a ?)	4.00-12.00	*11.15	3.6 j	*10.84	2.4 m
GB Bruts	7.46 x10 ⁹ /L	a ?)		11.15	3.6 j	10.84	2.4 m
GR	2.36 x10 ¹² /L	i ?)	4.00-5.20	1.94	3.6 j	3.80	2.4 m
HB	*6.8 g/dL	i ?)	11.0-13.6	*5.0	3.6 j	10.4	2.4 m
HT I/ISG	0.19 L/L	i B ?)	0.31-0.42	0.13	3.6 j	0.30	2.4 m
VGM	81.4 fL	a ?)	70.0-87.0	68.3	3.6 j	79.2	2.4 m
TGMH	28.8 pg	a ?)	23.0-29.0	25.8	3.6 j	27.4	2.4 m
CCMH	35.4 g/dL	?)	32.0-36.0	37.8	3.6 j	34.6	2.4 m
IDR	20.3 %	i ?)	<15.0	23.5	3.6 j	22.9	2.4 m
PLA	>91 x10 ⁹ /L	i A ?)	150-400	413	3.6 j	658	2.4 m
IPF%	*17.3 %	? ?)		*1.0	14 m	*3.9	17 m
MGGP	*{<AMAS}	? ?)		*{<AMASA}	16 m		
NEU%	12.0 %	A ?)		44.0	3.6 j	51.0	2.4 m
NEU	*0.90 x10 ⁹ /L	i A ?)	1.50-8.00	4.91	3.6 j	5.53	2.4 m
EOS%	1.0 %	?)		0.0	3.6 j	0.0	2.4 m
EOS	0.07 x10 ⁹ /L	?)	<0.50	0.00	3.6 j	0.00	2.4 m
BAS%	0.0 %	?)		0.0	3.6 j	0.0	2.4 m
BAS	0.00 x10 ⁹ /L	?)	<0.20	0.00	3.6 j	0.00	2.4 m
LYM%	77.0 %	?)		49.0	3.6 j	43.0	2.4 m
LYM	5.74 x10 ⁹ /L	?)	4.00-8.00	5.46	3.6 j	4.66	2.4 m
MONO%	5.0 %	a ?)		0.0	3.6 j	6.0	2.4 m
MONO	0.37 x10 ⁹ /L	a ?)	0.30-1.50	0.00	3.6 j	0.65	2.4 m
PLAS%	*5.0 %	? ?)					
RET%	0.5 %	A ?)		1.8	3.6 j	9.8	2.4 m
RET	12.30 x10 ⁹ /L	i A ?)	20.00-100.00	35.10	3.6 j	373.50	2.4 m

Dossier 2 – suite- bebe RT, 19 mois

	07/07			03/07		24/04	
GB	*7.46 x10 ⁹ /L	a ?)	4.00-12.00	*11.15	3.6 j	*10.84	2.4 m
GB Bruts	7.46 x10 ⁹ /L	a ?)		11.15	3.6 j	10.84	2.4 m
GR	2.36 x10 ¹² /L	i ?)	4.00-5.20	1.94	3.6 j	3.80	2.4 m
HB	*6.8 g/dL	i ?)	11.0-13.6	*5.0	3.6 j	10.4	2.4 m
HT I/SG	0.19 L/L	iB ?)	0.31-0.42	0.13	3.6 j	0.30	2.4 m
VGM	81.4 fL	a ?)	70.0-87.0	68.3	3.6 j	79.2	2.4 m
TGMH	28.8 pg	a ?)	23.0-29.0	25.8	3.6 j	27.4	2.4 m
CCMH	35.4 g/dL	i ?)	32.0-36.0	37.8	3.6 j	34.6	2.4 m
IDR	20.3 %	i ?)	<15.0	23.5	3.6 j	22.9	2.4 m
PLA	>91 x10 ⁹ /L	iA ?)	150-400	413	3.6 j	658	2.4 m
IPF%	*17.3 %	? ?)		*1.0	14 m	*3.9	17 m
MGGP	*{<AMAS}	? ?)		*{<AMASA}	16 m		
NEU%	12.0 %	A ?)		44.0	3.6 j	51.0	2.4 m
NEU	*0.90 x10 ⁹ /L	iA ?)	1.50-8.00	4.91	3.6 j	5.53	2.4 m
EOS%	1.0 %	?)		0.0	3.6 j	0.0	2.4 m
EOS	0.07 x10 ⁹ /L	?)	<0.50	0.00	3.6 j	0.00	2.4 m
BAS%	0.0 %	?)		0.0	3.6 j	0.0	2.4 m
BAS	0.00 x10 ⁹ /L	?)	<0.20	0.00	3.6 j	0.00	2.4 m
LYM%	77.0 %	?)		49.0	3.6 j	43.0	2.4 m
LYM	5.74 x10 ⁹ /L	?)	4.00-8.00	5.46	3.6 j	4.66	2.4 m
MONO%	5.0 %	a ?)		0.0	3.6 j	6.0	2.4 m
MONO	0.37 x10 ⁹ /L	a ?)	0.30-1.50	0.00	3.6 j	0.65	2.4 m
PLAS%	*5.0 %	? ?)					
RET%	0.5 %	A ?)		1.8	3.6 j	9.8	2.4 m
RET	12.30 x10 ⁹ /L	iA ?)	20.00-100.00	35.10	3.6 j	373.50	2.4 m

B19 IgG LIA1 SER	Négative	Négative	Négative
Index	0.74	<0.1	<0.10
B19 IgM LIA1 SER	Positive	Négative	
Index	>48	0.5	
B19 Ccl SER	{<B196}	Charge virale @	{<B190}

B19 ADNQ ARG1 SER	Positive	réalisée	
B19 CV (Copies/mL)	Copies/mL	*Très positive.	
B19 CV (Log copies/m	log copies/mL		
B19 Ccl	Infection évol@		

Conclusion :

Episode d'anémie sévère en lien avec une primo-infection par le parvovirus B19 (cause d'érythroblastopénie)

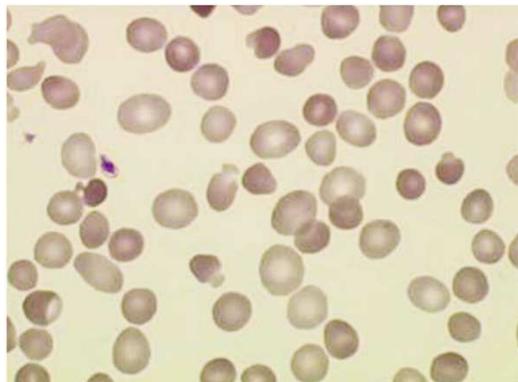
Dossier 3 - Mr O, 30 ans,

pas d'HF ou personnelle, admis pour cholecystectomie, dans un contexte d'hyperbilirubinémie franche
 -> NFS , au vu du frottis, le biologiste ajoute les réticulocytes

Code de pargé	Code biologique	Unité	Norme
GB	*8.25 x10 ⁹ /L		4.00-10.00
GB Bruts	8.25 x10 ⁹ /L		
GR	4.09 x10 ¹² /L		4.20-5.90
HB	14.3 g/dL		13.0-17.0
HT M/SG	0.38 L/L		0.40-0.54
VGM	92.8 fL		82.0-98.0
TGMH	34.9 pg		27.0-32.0
CCMH	37.6 g/dL		32.0-36.0
IDR	18.4 %		<15.0
PLA	206 x10 ⁹ /L		150-400
VMP	*10.9 fL		7.1-9.1
NEU%	77.8 %		
NEU	6.42 x10 ⁹ /L		1.50-7.00
EOS%	3.0 %		
EOS	0.25 x10 ⁹ /L		<0.50
BAS%	0.9 %		
BAS	0.07 x10 ⁹ /L		<0.20
LYM%	13.5 %		
LYM	1.11 x10 ⁹ /L		1.00-4.00
MONO%	4.8 %		
MONO	0.40 x10 ⁹ /L		0.10-1.00
RET%	*8.6 %		
RET	*351.00 x10 ⁹ /L		20.00-100.00

HAPTO	<0.07 g/L		0.30-2.00
BILT	131 µmol/L		<17
BILC	*10 µmol/L		<6
PAL	61 U/L		56-152
ASAT PP	21 U/L		<50
ALAT PP	8 U/L		<50
GGT	9 U/L		<61
LDH	238 U/L		125-250

Hb normale - > hémolyse compensée



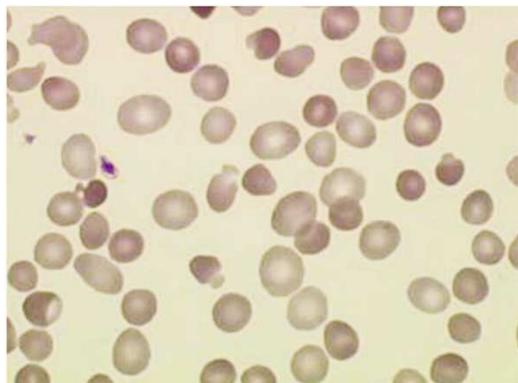
Dossier 3 - Mr O, 30 ans,

pas d'HF ou personnelle, admis pour cholecystectomie, dans un contexte d'hyperbilirubinémie franche
 -> NFS , au vu du frottis, le biologiste ajoute les réticulocytes

Code de pargé	Code biologique	Unité	Norme
GB	*8.25 x10 ⁹ /L		4.00-10.00
GB Bruts	8.25 x10 ⁹ /L		
GR	4.09 x10 ¹² /L		4.20-5.90
HB	14.3 g/dL		13.0-17.0
HT M/SG	0.38 L/L		0.40-0.54
VGM	92.8 fL		82.0-98.0
TGMH	34.9 pg		27.0-32.0
CCMH	37.6 g/dL		32.0-36.0
IDR	18.4 %		<15.0
PLA	206 x10 ⁹ /L		150-400
VMP	*10.9 fL		7.1-9.1
NEU%	77.8 %		
NEU	6.42 x10 ⁹ /L		1.50-7.00
EOS%	3.0 %		
EOS	0.25 x10 ⁹ /L		<0.50
BAS%	0.9 %		
BAS	0.07 x10 ⁹ /L		<0.20
LYM%	13.5 %		
LYM	1.11 x10 ⁹ /L		1.00-4.00
MONO%	4.8 %		
MONO	0.40 x10 ⁹ /L		0.10-1.00
RET%	*8.6 %		
RET	*351.00 x10 ⁹ /L		20.00-100.00

HAPTO	<0.07 g/L		0.30-2.00
BILT	131 µmol/L		<17
BILC	*10 µmol/L		<6
PAL	61 U/L		56-152
ASAT PP	21 U/L		<50
ALAT PP	8 U/L		<50
GGT	9 U/L		<61
LDH	238 U/L		125-250

- Test EMA 25% : significativement diminué
- Ektacytometrie profil typique de sphérocytose hereditaire
- Recherche genetique de syndrome de Gilbert (promoteurUGT1A1) positive



→ Bilirubine très élevée car syndrome de Gilbert associé : complications lithiasiques +++

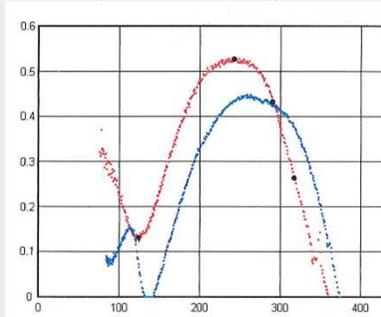
Conclusion :
Sphérocytose peu expressive associée à un syndrome de Gilbert

Dossier 4 - Mlle TM, 23 ans, explorée pour asthénie, découverte de splénomégalie et d'une hémolyse

Concentrations	Hémolyse chronique	?	?	?
GB	*8.27 x10 ⁹ /L	?))	4.00-10.00
GB Bruts	8.27 x10 ⁹ /L	?))	
GR	3.70 x10 ¹² /L	1	?)	3.80-5.00
HB	13.7 g/dL	?))	12.0-16.0
HT I/1 SG	0.38 L/L	?))	0.37-0.47
VGM	103.2 fL	1	?)	82.0-98.0
TGMH	37.0 pg	1	c ?	27.0-32.0
CCMH	35.9 g/dL	?))	32.0-36.0
IDR	14.8 %	?))	<15.0
PLA	293 x10 ⁹ /L	?))	150-400
VMP	*11.2 fL	1	?)	7.1-9.1
GR Hyperdenses%	0.30 %	?))	
RET%	4.0 %	?))	
RET	147.30 x10 ⁹ /L	1	?)	20.00-100.00

Test EMA : 5% : normal

Ektacytometrie : profil de stomatocytose deshydratée

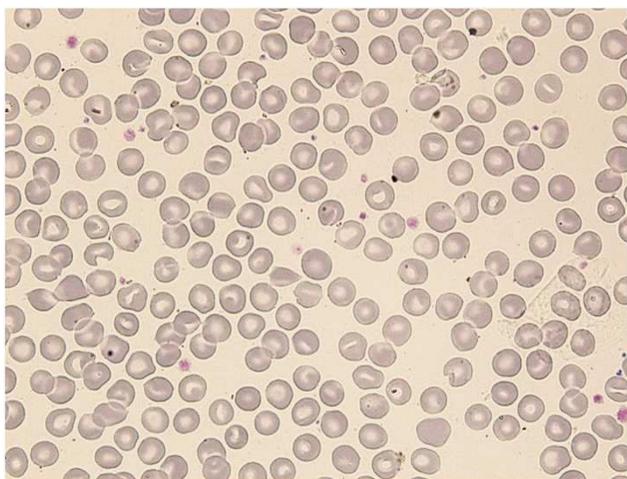


A compléter par l'étude du gène PIEZO1

Etude familiale recommandée

Macrocytose sans anémie, CCMH normale haute, régénérative

Frottis : cellules cibles, stomatocytes



Diagnostic : stomatocytose héréditaire, contexte familial

étude familiale : Mr TC, Père de MT, 54 ans

Concentrations	Contexte familial (c)	?	?	?
GB	*6.30 x10 ⁹ /L	?))	4.00-10.00
GB Bruts	6.30 x10 ⁹ /L	?))	
GR	3.87 x10 ¹² /L	1	c ?	4.20-5.90
HB	14.8 g/dL	?))	13.0-17.0
HT I/1 SG	0.43 L/L	?))	0.40-0.54
VGM	112.3 fL	1	c ?	82.0-98.0
TGMH	38.3 pg	1	c ?	27.0-32.0
CCMH	34.1 g/dL	?))	32.0-36.0
IDR	14.3 %	?))	<15.0
PLA	225 x10 ⁹ /L	?))	150-400
RET%	10.9 %	1	c ?	
RET	420.00 x10 ⁹ /L	1	c ?	20.00-100.00

Dossier 5- Mlle FRH, 4 ans,

il y a une semaine, apparition d'une asthénie, d'une fièvre et ictère conjonctival d'apparition progressive. Le médecin conclut à une infection virale. qq jours apres, douleurs abdominales et vomissements, persistance des symptomes

le matin meme, consultation d'un nouveau médecin : débord hépatique et ictère persistant , il prescrit une NFS , ionogramme, bilan hépatique et échographie à faire en ville dans la journée. Au vu des resultats , elle est admise à l hopital :

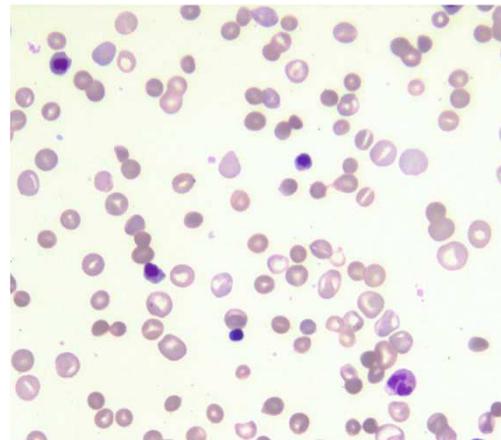
GB	*13.45 x10 ⁹ /L	1	?	4.00-12.00
GB Bruts	13.45 x10 ⁹ /L	?	?	
GR	0.96 x10 ¹² /L	1	c ?	4.00-5.20
HB	*3.5 g/dL	1	c ?	11.0-13.6
HT M/SG	0.12 L/L	1	c ?	0.31-0.42
VGM	121.0 fL	1	c ?	70.0-87.0
TGMH	36.5 pg	1	c ?	23.0-29.0
CCMH	30.2 g/dL	1	?	32.0-36.0
IDR	25.5 %	1	?	<15.0
PLA	248 x10 ⁹ /L	1	?	150-400
MGGP	*{<AMASA}	?	?	
VMP	*9.0 fL	?	?	7.1-9.1
NEU%	54.0 %	?	?	
NEU	11.67 x10 ⁹ /L	1	?	1.50-8.00
EOS%	3.0 %	?	?	
EOS	0.65 x10 ⁹ /L	1	?	<0.50
BAS%	2.0 %	?	?	
BAS	0.43 x10 ⁹ /L	1	?	<0.20
LYM%	36.0 %	c	?	
LYM	7.78 x10 ⁹ /L	c	?	4.00-8.00
MONO%	5.0 %	?	?	
MONO	1.08 x10 ⁹ /L	?	?	0.30-1.50
ERY%	*188.0 %	c	?	
ERY	*117.01 x10 ⁹ /L	?	?	

Demande d'examen du frottis

Anémie +++ macrocytaire, erythroblastose ++
pas de thrombopenie, pas de leucopenie,
Frottis : pas de blastes, spherocytes ++

Diagnostic : anemie hémolytique auto immune

NA	139 mmol/L	?	?	135-146
K S	4.6 mmol/L	?	?	3.2-5.1
CL	104 mmol/L	?	?	98-107
CO2T	23 mmol/L	?	?	20-28
PROT S	63 g/L	?	?	60-80
ANION	*12 mmol/L	?	?	8-16
Urée	3.4 mmol/L	?	?	1.6-6.5
CREAT	35 µmol/L	?	?	27-77
HAPTO	<0.07 g/L	1	c ?	0.30-2.00
BILT	100 µmol/L	1	?	<17
BILC	*9 µmol/L	1	?	<6
PAL	124 U/L	1	?	145-340
ASAT PP	103 U/L	1	?	<40
ALAT PP	30 U/L	?	?	<40
GGT	13 U/L	?	?	<25
LDH	*2484 U/L	1	c ?	<300
FERRI	86 µg/L	?	?	5-124



Traitement

- Solumédrol 2 mg/Kg à J1
- Transfusion 20 ml/Kg bien tolérée
- Relais Solupred 1 mg/Kg toutes les 12h à partir de J2
- Introduction acide folique 5 mg

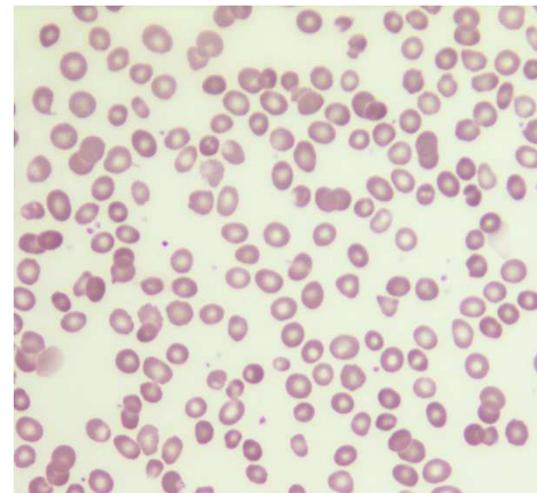
Dossier 6 - Mme HG, 25 ans,

pas d'histoire familiale, diagnostic de Sphérocytose hereditaire il y a 4 ans, a l'occasion d'une MNI avec anemie et poussée d'hémolyse, elle a été transfusée plusieurs fois a l'occasion de viroses, se plaint d'asthenie; presente une franche splenomegalie

GB Bruts	4.64 x10 ⁹ /L			
GR	2.91			3.80-5.00
HB	8.1 g/dL			12.0-16.0
HT I/SG	0.24 L/L			0.37-0.47
VGM	83.3 fL			82.0-98.0
TGMH	27.8 pg			27.0-32.0
CCMH	33.4 g/dL			32.0-36.0
IDR	17.1 %			<15.0
PLA	192 x10 ⁹ /L			150-400
VMP	*9.0 fL			7.1-9.1
GR Hyperdenses%	2.60 %			
NEU%	63.5 %			
NEU	2.95 x10 ⁹ /L			1.50-7.00
EOS%	2.2 %			
EOS	0.10 x10 ⁹ /L			<0.50
BAS%	0.4 %			
BAS	0.02 x10 ⁹ /L			<0.20
LYM%	30.8 %			
LYM	1.43 x10 ⁹ /L			1.00-4.00
MONO%	3.1 %			
MONO	0.14 x10 ⁹ /L			0.10-1.00
RET%	1.5 %			
RET	43.90 x10 ⁹ /L			20-100

HAPTO	0.29 g/L			0.30-2.00
BILT	44 µmol/L			<17
BILC	*12 µmol/L			<6
PAL	54 U/L			42-98
ASAT PP	13 U/L			<35
ALAT PP	14 U/L			<35
GGT	8 U/L			<36
LDH	310 U/L			240-480

Fer	33 µmol/L			8-28
TRF	1.47 g/L			2.00-3.20
CTF	*37 µmol/L			50-80
CSTF%	*90 %			20-40
FERRI	818 µg/L			20-200



- Test EMA : diminution de liaison de 12%
- Ektacytométrie : atypique, non diagnostique

Quels examens diagnostiques ?

- Chelation (Exjade)
- IRM hepatic et cardiaque pour evaluer la surcharge

- myélogramme fait : hyperplasie érythroblastique, nombreux érythroblastes binucléés
- Etude **génétique ' Panel NGS ciblé : Anémie/hémolyse'**
- Résultat : double hétérozygote pour 2 mutations délétères du gène SEC23B

-> diagnostic de dysérythropoïèse congénitale de type 2 (CDAII)

Diagnostic différentiel de la sphérocytose héréditaire

– les différences concernant l'hémogramme:
dans la CDAII

- anémie plus marquée
- macrocytose fréquente
- CCMH strictement normale (< 34 %)
- hyperréticulocytose modérée ou absente
- franche splénomégalie
- surcharge martiale fréquente

- Etude génétique nécessaire