



K-KLINIK-1

Cas clinique présenté et expertisé par :

Dr COITO Sylvie
Médecin spécialiste en biologie
Laboratoires Ketterhill

PSEUDO MICROANGIOPATHIE THROMBOTIQUE

Un patient de 57 ans consulte son médecin pour asthénie depuis un mois et d'une dyspnée d'effort depuis quelque jours.

L'examen clinique révèle un teint pale et des conjonctives sub-ictériques.

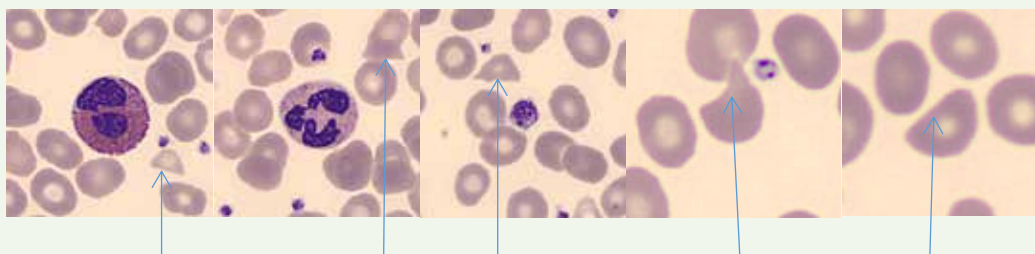
L'examen clinique est sans particularité, sans symptomatologie hémorragique extériorisée. L'examen cardiologique est rassurant sans signe d'insuffisance cardiaque et l'ECG est sinusal.

13

NFS :

Leucocytes :	3.42	G / L	Lymphocytes :	1.280	G / L
Erythrocytes :	2.16	T / L	Monocytes :	0.180	G / L
Hémoglobine :	8.9	g / dL	Eosinophiles :	0.1	G / L
Hématocrite :	27.1	%	Basophiles :	0.010	G / L
MCV :	125.5	fL	Réticulocytes :	50	G / L
Plaquettes :	106	G / L	CRP :	7	mg / L
Neutrophiles :	1.84	G / L			

Frottis sanguin : présence de schizocytes



- 1- Quelle est l'interprétation des résultats biologiques ?
- 2- Quelle est l'urgence à évoquer devant la présence des schizocytes ?
- 3- Quel paramètre est primordial pour orienter le diagnostic ?
- 4- Quel est le diagnostic retenu ?
- 5- Quelle valeur pour les auto-anticorps ?

1- Quelle est l'interprétation des résultats biologiques ?

L'examen biologique montre une anémie macrocytaire non régénérative associée à une légère thrombopénie. Au frottis sanguin, on observe quelques schizocytes (< 5 %).

Au vu des premiers résultats, quelles sont les analyses à ajouter ?

Il convient de rechercher une étiologie à l'anémie macrocytaire et à la présence de schizocytes et ainsi d'ajouter :

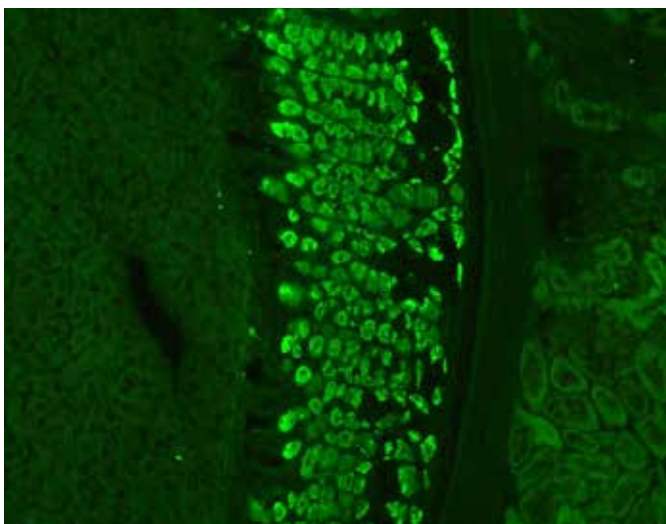
- ◇ Bilan de carence vitaminique :
 - Vitamine B12
 - Folate
- ◇ Bilan d'hémolyse :
 - Haptoglobine
 - LDH
 - Bilirubine libre
 - Test de Coombs

Les résultats sont :

Folates :	3.4 ng / mL
Vitamine B12 :	< 125 pg / mL
GOT :	37 UI / L
GPT :	22 UI / L
GGT :	21 UI / L
LDH :	420 U / L
Bilirubine totale :	2.3 m / dL
Bilirubine directe (conjugué) :	0.8 mg / dL
Bilirubine indirecte (libre) :	1.5 mg / dL
Test de Coombs direct:	Négatif

Puis en 2^{ème} intention : les anticorps anti Facteur intrinsèque et anti- cellules pariétales.

Foie muqueuse estomac rein



Positivité des cellules pariétales (estomac) sur coupe de Rein / Foie / Estomac en immunofluorescence

2- Quelle est l'urgence à évoquer devant la présence des schizocytes ?

La présence de schizocytes au frottis sanguin > 5 % fait évoquer tout d'abord une hémolyse mécanique qui peut être l'expression d'une microangiopathie thrombotique (MAT).

L'association d'une anémie à une thrombopénie avec présence de schizocytes fait craindre en premier lieu une microangiopathie thrombotique (MAT) qui se décline en deux entités : le syndrome hémolytique et urémique et le purpura thrombotique thrombocytopénique.

Le premier présente un tropisme rénal, avec un risque d'insuffisance rénale aiguë, tandis que le second atteint plutôt le système nerveux central, pouvant conduire notamment à un état de mal épileptique.

Le pronostic vital peut être rapidement engagé par pluri-défaillance d'organes.

La MAT est donc une urgence thérapeutique qui nécessite une prise en charge spécialisée au sein d'un centre de référence proche d'un service de soins intensifs, afin d'envisager des échanges plasmatiques répétés et une thérapie immunosuppressive.

3- Quel paramètre est primordial pour orienter le diagnostic ?

Le dosage des réticulocytes est la pierre angulaire de la démarche diagnostique devant une anémie normo/macrocytaire isolée ou une bicytopénie, afin de déterminer son caractère régénératif.

La distinction entre MAT et pseudo-MAT est primordiale afin d'éviter des errances diagnostiques et des mesures thérapeutiques inadaptées potentiellement invasives.

En cas de MAT, l'anémie est régénérative, avec des réticulocytes élevés, conséquence d'une destruction mécanique des hématies secondaires à une cascade d'activation inappropriée de la coagulation et d'activation plaquettaire.

La vigilance est de mise dans cette pathologie, car les schizocytes qui sont des hématies fragmentées circulantes peuvent apparaître de façon retardée, nécessitant leur recherche répétée dans les 72 premières heures.

L'anémie est macrocytaire en cas de pseudo-MAT et plus souvent normocytaire en cas de MAT.

4- Quel est le diagnostic retenu ?

Le diagnostic est une pseudo-microangiopathie thrombotique, conséquence d'une carence en vitamine B12 due à une maladie de Biermer.

La carence en vitamine B12 se manifeste le plus souvent par une anémie macrocytaire isolée, voire une pancytopenie.

Plus rarement, dans 10 % des cas, en cas de carence profonde en vitamine B12, les hématies fortement augmentées de volume perdent leur capacité à se déformer dans les capillaires et peuvent être hémolysées donnant un tableau de pseudo-MAT.

Ces mécanismes expliquent les stigmates d'hémolyse (subictère, LDH augmentée, bilirubine libre augmentée, haptoglobine effondrée) qui peuvent orienter à tort vers une anémie d'origine périphérique.

Ainsi, la schizocytose est retrouvée à la fois dans les MAT mais aussi dans les carences vitaminique. Ces deux entités doivent être clairement identifiées afin de ne mettre en place un traitement inadapté. Une anémie hémolytique arégénérative, associée à une thrombopénie modérée est fortement évocatrice d'une pseudo-MAT dans le cadre d'une carence en B12.

La normalisation de la numération globulaire après supplémentation en vitamine B12 quelle soit orale ou parentérale apporte la preuve définitive du diagnostic carenciel.

5- Quelle valeur pour les auto-anticorps ?

La maladie de Biermer est une maladie auto-immune caractérisée par une destruction de la muqueuse gastrique, conduisant à la réduction de la synthèse du facteur intrinsèque qui se lie normalement à la vitamine B12 afin de permettre son absorption au niveau de l'iléon distal. Elle représente 20 % des étiologies de carence en vitamine B12.

Les auto-anticorps ont une place importante dans le diagnostic de la maladie de Biermer.

La présence d'anticorps anti-cellules pariétales est quasi constante (sensibilité 90 % mais spécificité faible de 60 %), alors que celle d'anticorps anti-facteur intrinsèque est moins fréquente (60 %) mais est quasi pathognomonique (spécificité 90 -100 %).

Les anticorps anti-cellules pariétales isolées peuvent être retrouvés également dans les endocrinopathies auto-immunes telles que les thyroïdites et le diabète de type 1 mais aussi chez des sujets sains à titre faible et leur fréquence augmente avec l'âge.





K-KLINIK-2

Cas clinique présenté et expertisé par :

Dr AULOGE Laurence
Pharmacienne spécialisée en biologie
Laboratoires Ketterhill

INFECTION À SARS-CoV2 ET HÉMOLYSE

M. T., 22 ans en 2020, est testé positif au **SARS-CoV2** en septembre 2020. Il présente des symptômes légers qui disparaissent rapidement.

En novembre 2020, il présente une pâleur et une asthénie. Son bilan biologique montre une **anémie sévère (5 g / dl)** nécessitant deux transfusions les 24 novembre et 15 décembre 2020.

Il est ensuite suivi régulièrement pour contrôler son taux d'hémoglobine.

NFS :

18/01/21 : Hb =	12.1	g / dl	Réticulocytes :	617	G / l	présence de sphérocytes.
Bilirubine totale :	80	mg / l	Bilirubine libre :	74	mg / l	Haptoglobine : < 0.1 g / l
02/02/21 : Hb =	10.9	g / dl	Réticulocytes :	701	G / l	présence de sphérocytes.
22/02/21 : Hb =	13.7	g / dl	Réticulocytes :	544	G / l	présence de sphérocytes.
04/05/21 : Hb =	12.5	g / dl	Réticulocytes :	467	G / l	
27/05/21 : Hb =	13.6	g / dl	Réticulocytes :	200	G / l	

- 1- Quelle est l'interprétation de ce bilan sanguin ?
- 2- Quand penser à une Sphérocytose Hériditaire (SH) ?
- 3- Quelles sont les analyses à prescrire ?
- 4- Quel lien avec SARS-CoV2 ?

1- Quelle est l'interprétation de ce bilan sanguin ?

L'Haptoglobine effondrée et la bilirubine augmentée sont des marqueurs d'**Hémolyse**.

L'Hémolyse est bien compensée (taux d'Hémoglobine normal ou sub-normal et Réticulocytes élevés).

Les **Sphérocytes** sont un marqueur de **Sphérocytose Héritaire** (SH ou maladie de Minkowski-Chauffard), même s'ils ne sont pas spécifiques et peuvent être présents dans les anémies d'origine immunologique.

Antécédents du patient :

A la naissance, M.T. présente un **ictère** néo-natal traité par lumineothérapie.

Devant l'apparition brutale d'une **anémie** ayant nécessité une transfusion, dans un contexte familial évocateur, le diagnostic de **Sphérocytose Héritaire** (SH ou maladie de Minkowski-Chauffard) est posé à quelques jours de vie.

Durant sa 1^e année de vie, M.T. bénéficie d'un traitement par Erythropoïétine (EPO) pour éviter le recours aux transfusions.

Son enfance et son adolescence se passent sans soucis particuliers.

A noter cependant : à 6 ans, il est contracte une infection à **parvovirus B19**, qui fait chuter son Hémoglobine à 5g/dl, nécessitant une transfusion.

Devenu jeune adulte, M.T subit une **cholécystectomie** à l'âge de 20 ans en 2018 suite à la découverte de calculs biliaires.

2- Quand penser à une Sphérocytose Héritaire (SH) ?

La SH est évoquée devant un tableau d'**hémolyse intra-tissulaire chronique** associant **ictère, anémie régénérative** et **splénomégalie**, dans un **contexte familial** présent dans les ¾ des cas.

La SH est l'**anémie d'origine membranaire** la plus fréquente, elle est présente dans toutes les populations avec une prévalence de 1 / 2000 à 1 / 3000 personnes en Europe de l'Est et Amérique du Nord.

Sa transmission est autosomique dominante dans 75 % des cas, sporadique ou autosomique récessive dans 25 % des cas.

Elle est due à un **déficit** (qualitatif ou quantitatif) en **protéines de membrane** (ankyrine, bande 3, spectrines α et β , protéine 4.2). Cette anomalie fragilise la membrane des Globules Rouges, qui se sphérisent et se déshydratent (**sphérocytes**), puis sont éliminés dans la rate.

L'Anémie est de gravité variable selon les individus :

- **forme asymptomatique ou minime** : Hb entre 11 et 15 g / dl, réticulocytes normaux ou entre 3 et 6 %.

- **forme modérée** (cas le plus fréquent, 60% des patients) : Hb entre 8 et 11 g / dl, réticulocytes > 6 %.
- **forme sévère** : Hb entre 6 et 8 g/dl et réticulocytes > 10 %.

La sévérité est la même au sein d'une même famille, en l'absence d'autres facteurs (bêta-thalassémie mineure ou trait drépanocytaire).

3- Quelles sont les analyses à prescrire ?

Diagnostic biologique :

Dans un contexte familial :

- **NFS** : la CCMH est souvent augmentée ou dans les valeurs hautes de la normale (présence de GR hyperdenses).

Présence ou non d'une Anémie.

- **Réticulocytes** : augmentés.
- **Examen de la morphologie des hématies sur frottis** (sphérocytes et autres anomalies : acanthocytes, champignons, elliptocytes...).
- **Marqueurs d'hémolyse** : haptoglobine, bilirubine, LDH.
- **Bilan martial** complet.

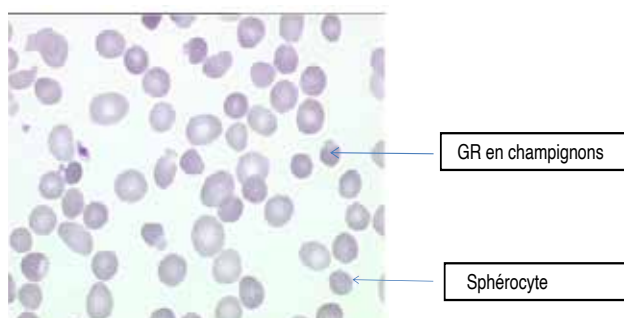
– **test EMA** :

Il s'agit d'un test de **confirmation** du diagnostic de SH, à réaliser devant un tableau biologique évocateur de SH.

On mesure par fluorescence en Cytométrie de Flux la liaison de la membrane des hématies au fluorochrome 5'éosine-maméimide (EMA).

Cette liaison est diminuée en cas d'anomalie du cytosquelette érythrocytaire.

Ce test est sensible mais non spécifique, c'est pourquoi **il doit toujours être associé à un examen du frottis sanguin** pour poser le diagnostic de SH.



Sphérocytose héréditaire : présence de sphérocytes et de GR « en champignon »

En l'absence de contexte familial, il faut ajouter :

- un **test de Coombs direct**
- une **électrophorèse de l'Hémoglobine**
- un **dosage de G6PD érythrocytaire**.

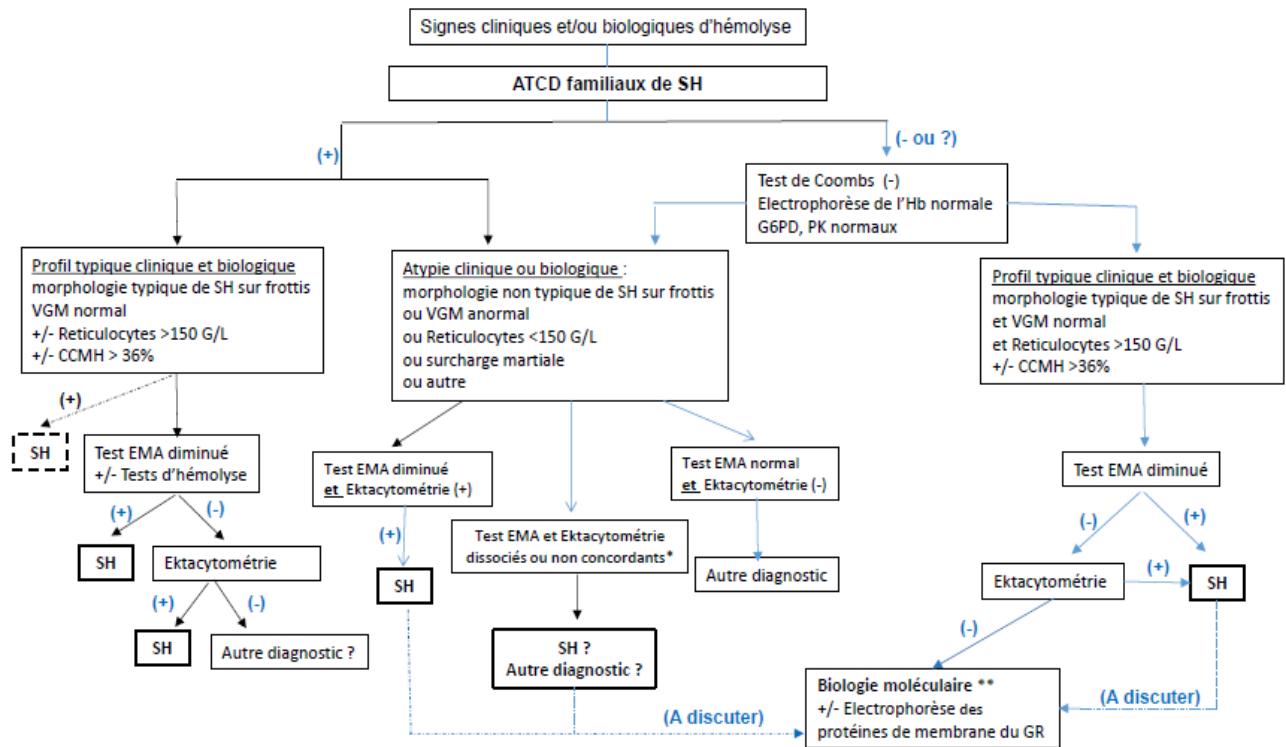
NB : ces examens ne sont interprétables qu'à distance (> 2 mois) d'une transfusion.

Examens de 2^e intention :

A réaliser si les examens ci-dessus ne permettent pas de poser le diagnostic de SH.

- **l'ektacytométrie** : permet de poser le diagnostic différentiel avec d'autres anomalies de membrane : elliptocytose héréditaire, majorité des stomatocytoses héréditaires, ovalocytose du Sud-Est asiatique.
- **l'électrophorèse des protéines de membrane du globule rouge** : différencie SH et dysérythropoïèse congénitale de type II.
- **La Biologie Moléculaire** : Elle est réservée aux cas plus rares : formes récessives ou sporadiques, formes sévères, formes mixtes.

Démarche diagnostique devant une suspicion de SH :



SH : sphérocytose héréditaire.

* Test EMA et Ektacytométrie dissociés ou non concordants : « Test EMA normal mais Ektacytométrie (+) » ou « Test EMA pathologique mais Ektacytométrie normale ».

** Biologie moléculaire : panel NGS ciblé « hémolyse constitutionnelle » contenant au minimum les gènes des protéines de la membrane et des enzymes érythrocytaires.

4- Quel lien avec SARS-CoV2 ?

L'Hémolyse chez un patient porteur de SH peut être majorée en cas de stress oxydatif causé par une infection virale ou bactérienne, ce qui entraîne une aggravation de l'anémie.

C'est le cas de M.T, porteur d'une SH bien compensée, sans besoins transfusionnels, si ce n'est lors de 2 épisodes d'infection virale, l'un à parvovirus B19 et l'autre à SARS-CoV2.

Bibliographie :

- Sphérocytose Héréditaire et autres anémies hémolytiques par anomalie de la membrane érythrocytaire – texte du protocole National de Diagnostic et de Soins – juillet 2021.
- Covid19 – Information de la filière MCGRE pour les patients atteints de maladies constitutionnelles du globule rouge – avril 2020.