

# Une anémie hémolytique

Kavish MOHABEER

Biologiste médical

Centre Hospitalier d'Angoulême

[kavish.mohabeer@ch-angouleme.fr](mailto:kavish.mohabeer@ch-angouleme.fr)

# Enfant de 3ans et demi

- Antécédents connus :
  - Crise convulsive inexpliquée à l'âge de deux ans
  - Accompagnée d'une anémie normochrome normocytaire régénérative et d'une discrète carence martiale
  - Ponction lombaire sans anomalie
  - Traitement de la carence
- Ce jour :
  - Fièvre + douleur abdo + AEG + rhinopharyngite
  - Anémie régénérative, pâleur
  - Nous sommes en hiver

## Hémogramme

### Numération globulaire

<i>XN10 Sysmex</i>				
Globules blancs	8,46	giga/L	4,50 - 14,50	
Globules rouges	* 2,82	tera/L	3,90 - 5,20	
Hémoglobine	** 7,9	g/dL	11,1 - 14,7	
Hématocrite	** 21,1	%	32,0 - 43,0	
V.G.M	74,8	fL	72,0 - 90,0	
C.C.M.H	** 37,5	g/dL	32,0 - 36,0	
T.C.M.H	28,0	pg	26,3 - 31,0	

### Numération plaquettaire

<i>XN10 Sysmex</i>				
Plaquettes	* 140	giga/L	170 - 450	

### Formule leucocytaire

<i>XN10 Sysmex #</i>				
Poly. neutrophiles	28,5	%		
soit :	2,41	giga/L	1,50 - 8,00	
Poly. éosinophiles	1,7	%		
soit :	0,14	giga/L	0,00 - 1,00	
Polynucléaires basophiles	0,8	%	0,0 - 2,0	
soit :	0,07	giga/L	0,00 - 0,10	
Lymphocytes	64,4	%		
soit :	* 5,45	giga/L	1,80 - 5,00	
Monocytes	4,6	%		
soit :	0,39	giga/L	0,15 - 1,30	

### Eléments contrôlés sur frottis

Présence de lymphocytes au cytoplasme abondant hyperbasophile évoquant un contexte réactionnel

Présence probable d'une agglutinine froide : GR, hématocrite, VGM, CCMH et TCMH recalculés

Absence d'agrégats plaquettaires sur frottis

### Commentaire :

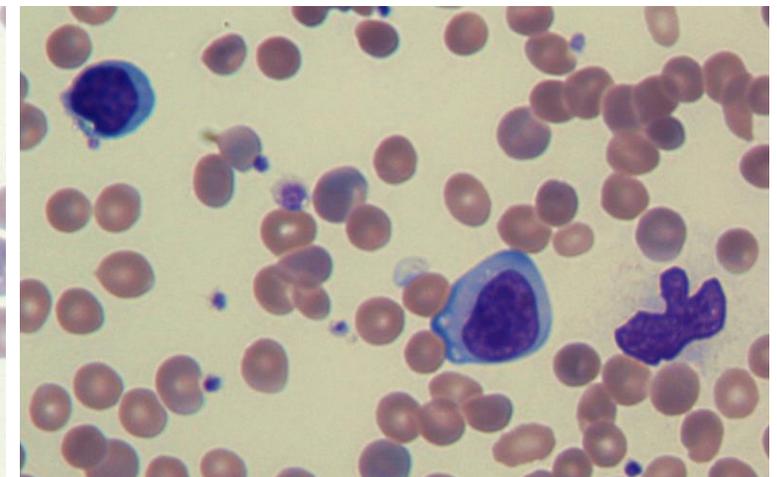
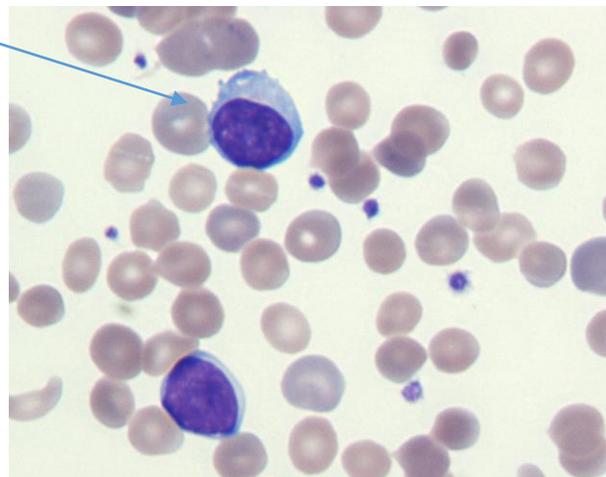
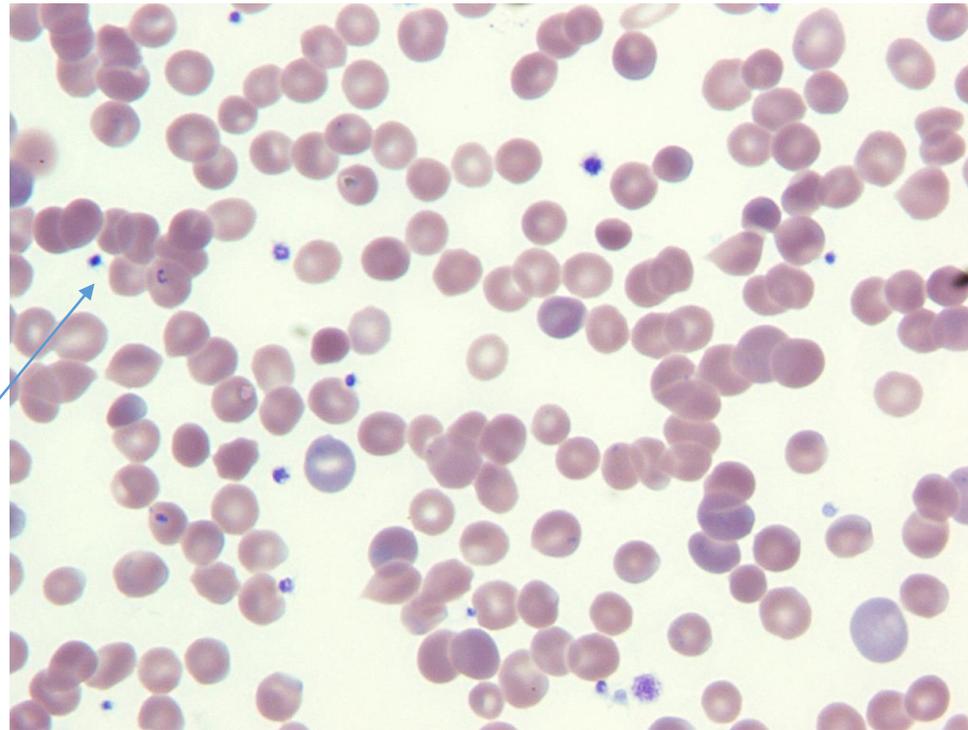
L'aspect réactionnel des lymphocytes et l'aspect d'agglutinat des hématies peut évoquer la présence d'une agglutinine froide. Les origines réactionnelles des agglutinines froides sont le plus souvent les suites d'une infection virale (CMV, EBV) ou d'une infection respiratoire à germe atypique (*Mycoplasma pneumoniae*). La positivité du bilan d'hémolyse en absence de schizocytes peut orienter vers une AHAI post-infectieuse. Une sérologie CMV, EBV, *Mycoplasma pneumoniae* est recommandée. Un dosage pondéral des immunoglobulines peut être prescrit pour évaluer l'immunité humorale.

### Recherche de schizocytes

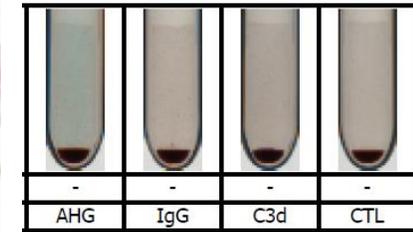
Recherche de schizocytes : Négative

*XN10 Sysmex.*

Réticulocytes	* 145,2	giga/L	22,0 - 82,0
Contenu en Hb des Réticulocytes	* 30,9	pg	32,1 - 38,8



LDH 549 U/L (125-220)  
Hapto < 0,08 g/l (0,11 - 2,2)



Coombs direct négatif

Enfant reconvoqué dans 48h pour  
recherche étiologique d'une anémie  
hémolytique à priori non autoimmune.

# 48h après : recherche étiologique

## SERODIAGNOSTIC DES INFECTIONS à VIRUS EPSTEIN-BARR

*Immunochimiluminescence - Alinity ci (Abbott)*

**Recherche d' IgG EBNA**                      **Négative**  
*(Seuil de positivité: index = 1)*

**Recherche d' IgG VCA/EA**                      **Négative**  
*(Seuil de positivité: index = 1)*

**Recherche d' IgM VCAM**                      **Négative**  
*(Seuil de positivité: index = 1)*

**Conclusion**                                      **Absence d'anticorps vis-à-vis du virus d' EPSTEIN BARR**  
**À contrôler dans 8 jours si contexte clinique évocateur**

## SERODIAGNOSTIC du CMV

*Immunochimiluminescence - Alinity ci (Abbott)*

**Recherche d'IgG anti CMV**                      **Négative**

**Recherche d'IgM anti CMV**                      **Négative**

**Conclusion**                                      **Absence d' Anticorps.**  
**En cas de contexte clinique d'immunodépression une recherche par biologie moléculaire peut être envisagée pour confirmer le diagnostic.**

# 48h après : recherche étiologique

## ERYTHROVIRUS B19 (PARVOVIRUS)

### **IMMUNOSEROLOGIE**

#### **Nature du prélèvement : Sérum**

Erythrovirus B19 IgM \* :

CLIA LIAISON XL DiaSorin (changement de réactif le 30/10/2023)

Négative

Erythrovirus B19 IgG \* :

CLIA LIAISON XL DiaSorin (changement de réactif le 15/11/2023)

Négative

Interprétation :

Profil sérologique en faveur de l'absence d'infection. Cependant, en cas de contact récent, la sérologie peut être encore négative.

Envoyer un deuxième sérum dans 2 semaines pour contrôle.

## MYCOPLASMA PNEUMONIAE

### **IMMUNOSEROLOGIE**

#### **Nature du prélèvement : Sérum**

Mycoplasma pneumoniae IgM \* :

CLIA LIAISON XL DiaSorin

POSITIVE

Mycoplasma pneumoniae IgG \* :

CLIA LIAISON XL DiaSorin

POSITIVE

Interprétation :

Infection active, stimulation polyclonale ou réactivité croisée.

Envoyer un sérum dans 2 à 4 semaines pour suivre l'évolution.

Les sérologies de Mycoplasma et Chlamydomphila pneumoniae étant souvent d'interprétation difficile, il est recommandé de leur associer une recherche directe des deux bactéries par PCR dans un prélèvement d'origine respiratoire (pharyngé ou pulmonaire).

# 48h après : recherche étiologique

## **BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

**Nature du prélèvement : Nez + Gorge**

Grippe A : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Bocavirus : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative
Grippe A H1 pdm09 : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Parainfluenza 1, 2, 3 et 4 : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative
Grippe A H3 : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Coronavirus (229 E) : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative
Grippe B : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Coronavirus (NL63) : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative
Virus respiratoire syncytial : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	<b>Coronavirus (OC 43) :</b> <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	<b>POSITIVE</b>
Human métagpneumovirus : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Rhinovirus : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative
Adénovirus : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative	Entérovirus : <small>PCR en temps réel multiplex, Allplex Respiratory Panel Assay (Seegene EUROBIO)</small>	Négative

# 48h après : recherche étiologique

## ENZYMES DU GLOBULE ROUGE

*Principes des méthodes : mesure de l'activité enzymatique par spectrophotométrie.*

Glucose 6 Phosphate deshydrogénase	UI/g Hb	*20.6	11-17
Pyruvate Kinase	U/g Hb	*25.5	14-19
Hexokinase	U/g Hb	*2.4	0.74-1.14

### CONCLUSION :

Les activités Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase, Hexokinase et Pyruvate Kinase sont augmentées par rapport aux valeurs usuelles, et sont à confronter à la stimulation érythropoïétique. De plus, les rapports G6PD/HexoKinase et Pyruvate Kinase/HexoKinase ne sont pas en faveur de la présence d'un déficit enzymatique.

Conclusion (en l'absence de transfusion récente):

. Absence de déficit apparent pour les enzymes étudiées.

## Hémogramme

### Numération globulaire

*XN10 Sysmex*

<b>Globules blancs</b>	<b>13,86</b>	<b>giga/L</b>	4,50 - 14,50
<b>Globules rouges</b>	* <b>3,18</b>	<b>tera/L</b>	3,90 - 5,20
<b>Hémoglobine</b>	* <b>9,4</b>	<b>g/dL</b>	11,1 - 14,7
<b>Hématocrite</b>	** <b>25,2</b>	<b>%</b>	32,0 - 43,0
<b>V.G.M</b>	<b>79,4</b>	<b>fL</b>	72,0 - 90,0
<b>C.C.M.H</b>	** <b>37,2</b>	<b>g/dL</b>	32,0 - 36,0
<b>T.C.M.H</b>	<b>29,6</b>	<b>pg</b>	26,3 - 31,0

### Numération plaquettaire

*XN10 Sysmex*

<b>Plaquettes</b>	<b>275</b>	<b>giga/L</b>	170 - 450
-------------------	------------	---------------	-----------

### Formule leucocytaire

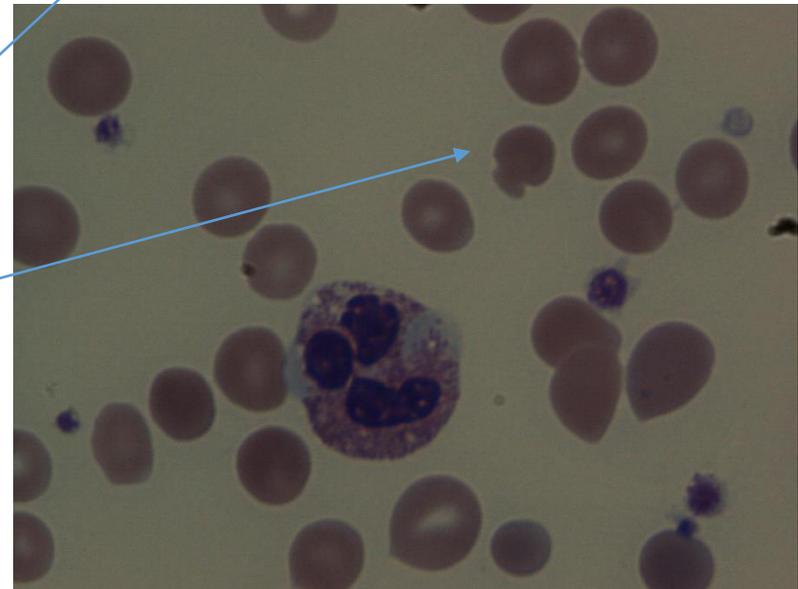
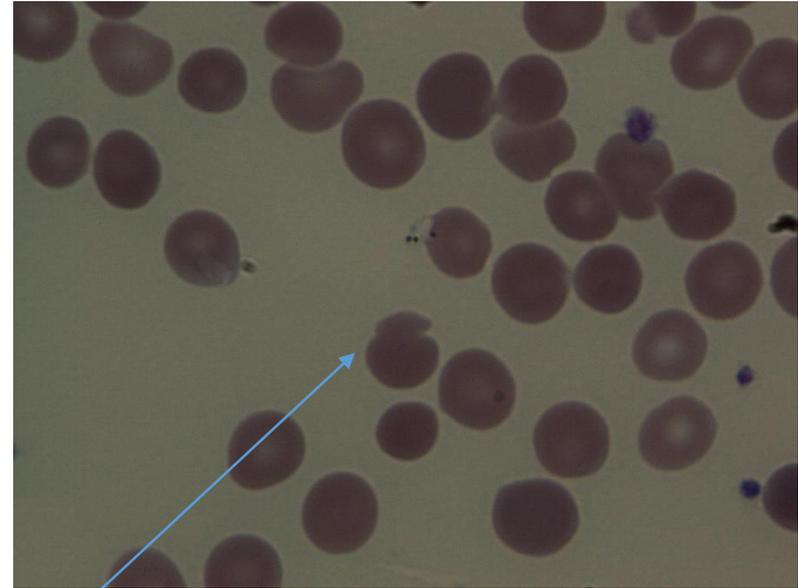
*XN 10 Sysmex #*

<b>Poly. neutrophiles</b>	<b>41,7</b>	<b>%</b>	
soit :	<b>5.78</b>	<b>giga/L</b>	1,5 - 8
<b>Poly. éosinophiles</b>	<b>2,5</b>	<b>%</b>	
soit :	<b>0.34</b>	<b>giga/L</b>	0 - 1
<b>Polynucléaires basophiles</b>	<b>0,6</b>	<b>%</b>	0,0 - 2,0
soit :	<b>0.09</b>	<b>giga/L</b>	0 - 0,1
<b>Lymphocytes</b>	<b>51,7</b>	<b>%</b>	
soit :	** <b>7.17</b>	<b>giga/L</b>	1,8 - 5
<b>Monocytes</b>	<b>3,5</b>	<b>%</b>	
soit :	<b>0.48</b>	<b>giga/L</b>	0,15 - 1,3

### Commentaire :

Présence de microsphérocytes et d'hématies "en champignon" pouvant être compatible avec une micosphérocytose héréditaire (maladie de Minkowski-Chauffard) devant être exploré par un test à l'EMA (sang total EDTA (1 tube) à température ambiante)

Présence de lymphocytes au cytoplasme abondant hyperbasophile évoquant des lymphocytes activés.



### Réticulocytes

*XN10 Sysmex.*

<b>Réticulocytes</b>	** <b>424,5</b>	<b>giga/L</b>	22,0 - 82,0
<b>Contenu en Hb des Réticulocytes</b>	<b>33,3</b>	<b>pg</b>	32,1 - 38,8

# Quelques mois plus tard

## MYCOPLASMA PNEUMONIAE

### **IMMUNOSEROLOGIE**

#### **Nature du prélèvement : Sérum**

Mycoplasma pneumoniae IgM \* :  
CLIA LIAISON XL DiaSorin

POSITIVE

Mycoplasma pneumoniae IgG \* :  
CLIA LIAISON XL DiaSorin

POSITIVE

Interprétation :

Absence d'évolution entre les 2 sérums en faveur d'une infection récente ou d'une fausse réactivité en IgM.

Résultat à confronter à celui de la recherche de Mycoplasma pneumoniae par PCR dans un prélèvement d'origine respiratoire (pharyngé ou pulmonaire).

#### **Recherche de Sphérocytose Héréditaire (maladie de Minkowski-Chauffard)**

Technique : Immunofluorescence Directe (Cytométrie de flux)

Automate : NAVIOS (Beckman-Coulter)

#### ***Intensité moyenne de fluorescence***

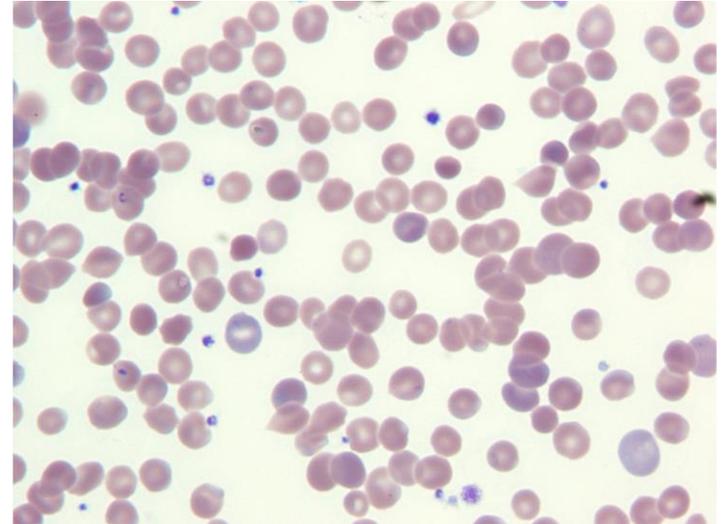
EMA Patient	29.6
EMA Témoin	43.6
Variation Patient/Témoin (%)	-32.1 %

#### ***Conclusion***

Présence d'une diminution de l'intensité moyenne d'expression de l'EMA des hématies du patient par rapport au témoin. Résultat en faveur d'une sphérocytose héréditaire.

# Discussion : Hyperchromie

- Liée à une agglutinine froide ?
  - Aspect d'agglutinat
  - Lymphocytes hyperbasophiles
  - Sérologie Mycoplasme pneumoniae positive
- Liée à la sphérocytose ?
  - Hypothèse la plus probable
  - Anémie hémolytique à Coombs direct négatif
  - Présence d'hématies hyperchromes sur les deux prélèvements
- Liée aux deux étiologies ?



# Discussion : frottis sanguin

- 1<sup>er</sup> prélèvement : focalisation sur les lymphocytes hyperbasophiles
  - Anisocytose : conjonction de carence martial + hémolyse
  - Sphérocytes : au sein d'une anisocytose sans schizocytes
  - Rares hématies en champignon : le biologiste ne s'y attarde pas
  - Le contexte de réactions virales possible biaise la lecture du frottis (PCR COVID +)
- 2eme prélèvement :
  - Les hématies en champignons sont plus flagrants
  - Le biologiste les repère
  - Les lymphocytes hyperbasophiles sont toujours présents
- Conclusion
  - Le cas particulier existe toujours
  - Toujours penser à l'observation minutieuse des 3 lignées
  - Indépendamment d'un contexte clinique évident

# Discussion sphérocytose héréditaire

- Anomalie de la membrane des GR
- Phénotype variable
- Penser à dire au clinicien de prélever avant transfusion pour les tests spécifiques (EMA, éktacytométrie, électrophorèse membranaire):
  - Délai d'acheminement restreint
  - Problème du vendredi et du week-end : discuter avec le clinicien (Transfusion retardable ? Diagnostic de confirmation urgent ou non ?)
- Souvent découvert suite à un épisode infectieux (virose, mycoplasme...)
- Les hématies en champignons ne sont pas toujours majoritaires (acanthocytes plus fréquent)
- Test génétique = confirmation finale