



ROYAUME DU MAROC  
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
FES



Année 2016

Thèse N° 198/16

# LA SPHÉROCYTOSE HÉRÉDITAIRE

Expérience de l'unité d'hémo-oncologie pédiatrique du CHU Hassan II de Fès  
( à propos de 18 cas )

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 25/10/2016

PAR

Mme. Fadoua Lahnaoui

Née le 19 Juin 1988 à Khémisset

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Sphérocytose héréditaire - Maladie de Minkowski Chauffard -Enfant - Anémie - Sphérocytes  
Splénectomie

JURY

M. HIDA MOUSTAPHA..... Professeur de Pédiatrie	PRESIDENT
Mme. BENMILOUD SARRA..... Professeur agrégé de Pédiatrie	RAPPORTEUR
M. ATMANI SAMIR..... Professeur de Pédiatrie	JUGES
M. AMRANI HASSANI MONCEF..... Professeur d'Hématologie	
M. EL MADI AZIZ..... Professeur agrégé de Chirurgie pédiatrique	

# PLAN

---

LISTE DES ABREVIATIONS .....	5
LISTE DES TABLEAUX .....	7
LISTE DES FIGURES .....	9
I. INTRODUCTION .....	11
II. RAPPEL PHYSIOPATHOLOGIQUE .....	13
III. PATIENTS ET METHODES.....	35
1. Type et population d'étude .....	35
2. Lieu et période d'étude .....	35
3. Critères d'inclusions et exclusions .....	35
4. Collecte des données .....	36
5. Classification .....	37
6. Suivi des patients .....	37
7. Analyse statistique .....	37
8. Ethique .....	38
IV.RESULTATS .....	47
1. Etude épidémiologique.....	47
2. Antécédents des patients .....	52
3. Circonstances de découverte .....	57
4. Manifestations cliniques.....	58
5. Données paracliniques .....	61
6. Prise en charge thérapeutique .....	70
7. Evolution et complications.....	71
8. Tableaux récapitulatif .....	75
IV.DISCUSSION .....	87
1. Historique.....	87
2. Epidémiologie .....	88

3. Génétique .....	98
4. Circonstances de découverte .....	109
5. Manifestations cliniques de la sphérocytose héréditaire .....	115
6. Méthodes de diagnostic : .....	121
6.1. Examens de première intention .....	121
6.2 Examens spécifiques .....	132
6.2.1. Etude de la fragilité osmotique des hématies .....	133
6.2.2. Ektacytométrie en gradient osmolaire et l'élongation .....	139
6.2.3. Méthode de cryométrie en flux après marquage des globules rouges avec l'éosine- 5 maléimide « EMA » .....	141
6.2.4. Electrophorèse des protéines de la membrane des globules rouges en gel de polyacrilamide .....	143
6.2.5. Etude moléculaire .....	145
7. Recommandations 2011 pour le diagnostic de la sphérocytose héréditaire	146
8. Formes cliniques de la sphérocytose héréditaire .....	148
9. Diagnostics différentiels .....	152
10. Prise en charge thérapeutique .....	158
10.1. Traitements médicaux .....	158
10.1.1. Erythropoïétine .....	158
10.1.2. Acide folique .....	160
10.1.3. Transfusion sanguine .....	161
10.2. Traitements chirurgicaux .....	163
10.2.1. Splénectomie .....	163
10.2.2. Cholécystectomie .....	171
11. Evolution et complications .....	173
11.1. Crises de déglobulisation .....	173

---

11.2. Lithiase biliaire .....	175
11.3. Retentissement sur la croissance et le développement .....	177
11.4. Ulcère de jambe et pyoderma gangrenosum .....	178
11.5. Manifestations diverses .....	179
12. Suivi médical et biologique.....	180
CONCLUSION.....	182
RESUMES .....	184
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	190

## LISTE DES ABREVIATIONS

AC ANTI LKM	: Anticorps anti microsomes du foie et de rein
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AHAI	: Anémie hémolytique auto-immune
AMPC	: Adenosine monophosphate cyclique
ANK1	: Ankyrin 1
ARN M	: Acide ribonucléique messenger
ATP	: Adenosine triphosphate
CCMH	: Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
CDA II	: Dysérythropoïèses congénitales de type II
CNOPS	: Caisse nationale d'organisme de prévoyance sociale
CNSS	: Caisse nationale de la sécurité sociale
DA	: Dalton
DHS	: Stomatocytoses héréditaires avec déshydratation des globules rouges.
DS	: Déviation standard
ECBU	: Examen cyto bactériologique des urines
EFS	: Etablissement français du sang
EMA	: Eosine-5'-maléimide
EPB 3	: Erythrocyte membrane protein band 3
EPB 42	: Erythrocyte membrane protein band 4
EPO	: Erythropoïétine
FAR	: Forces armées royales
G6PD	: Glucose 6 phosphate déshydrogénase
GB	: Globules blancs
GGT	: Gamma glutamyl transférase
GPA	: Glycophorine A
GPC	: Glycophorine C
GR	: Globule rouge
GRADE	: Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation
HB	: Hémoglobine
HEM	: Hématopoïèse extra-médullaire
HTAP	: Hypertension artérielle pulmonaire
ID	: Index de déformabilité
IE	: Index d'élongation
IMF	: Intensité moyenne de fluorescence
IRM	: Imagerie par résonance magnétique

---

KDA	: kilodaltons
LDH	: Lactate déshydrogénase
LEPRA	: Low Expression Prague
NANA	: N-acetyl neuraminic acid
NFS	: Numération formule sanguine
OHS	: Stomatocytoses héréditaires avec hyperhydratation des GR
PAL	: Phosphatases alcalalines
PCR	: Polymerase chain reaction
PM	: Poids moléculaire
PNN	: Polynucléaires neutrophiles
PPH	: Pyropoïkylocytose héréditaire
PRAGUE	: Mutation in the paternal allele designated alpha spectrin.
RAMED	: Régime d'assistance médicale
RFLP	: Polymorphisme de la longueur des fragments de restriction
R-HUEP	: Recombinant human erythropeitin
S/V	: Surface/volume
SAO	: Ovalocytose du sud-est asiatique
SDS-PAGE	: Electrophorèse des protéines de la membrane érythrocytaire sur gel de polyacrylamide
SH	: Sphérocytose héréditaire.
SPTA1	: Spectrin alpha erythrocytic1
SPTB	: Spectrin beta erythrocytic
SSCP	: Single strand conformational polymorphism
TCMH	: Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
TDD	: Travée de doigt
TM	: Transmembranaires
TNF-A	: Tumor necrosis factor alpha
TSH	: Thyroid stimulating hormone
VBIH	: Voie biliaire intra hépatique
VGM	: Volume globulaire moyen
VGMR	: Volume réticulocytaire

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition lipidique approximative de différentes membranes cellulaires.

Tableau 2: Fréquence de la sphérocytose héréditaire dans différents groupes ethniques.

Tableau 3: Estimation de l'incidence de la sphérocytose héréditaire en Chine sur une période de 36 ans allant de 1978 à 2013 (par tranches d'âges).

Tableau 4: Répartition des cas atteints de la sphérocytose héréditaire par tranches d'âges dans différentes séries.

Tableau 5: Age moyen au diagnostic des patients selon les études.

Tableau 6: Répartition de la sphérocytose héréditaire selon le sexe dans les différentes séries.

Tableau 7: Antécédents familiaux et la consanguinité dans différentes séries.

Tableau 8: Principaux gènes impliqués dans la sphérocytose héréditaire.

Tableau 9: Mutations du gène de la protéine 4.2 responsables de la sphérocytose héréditaire.

Tableau 10: Ictère néonatal dans différentes séries.

Tableau 11: Nombre des cas ayant un antécédent de transfusions dans différentes séries.

Tableau 12: Manifestations cliniques de la sphérocytose héréditaire dans différentes séries.

Tableau 13: Répartition du taux moyen de l'hémoglobine dans différentes séries.

Tableau 14: Répartition de la valeur moyenne de globules dans différentes séries.

Tableau 15: Répartition de la CCMH dans différentes séries.

Tableau 16: Répartition de la valeur moyenne de réticulocytes dans différentes séries.

Tableau 17: Pourcentage des sphérocytes sur un frottis sanguin dans différentes séries.

Tableau 18: Critères diagnostiques simples permettant d'évoquer le diagnostic de la sphérocytose héréditaire.

Tableau 19: Résultats des tests de fragilité osmotique dans différentes séries.

Tableau 20: Performance comparative des méthodes de diagnostic de la sphérocytose héréditaire.

Tableau 21 : Examens biologiques spécifiques pour le diagnostic de la sphérocytose héréditaire.

Tableau 22 : Classification de la SH selon Silverio Perrotta et al.

Tableau 23 : Répartition des cas ayant bénéficié d'une supplémentation de l'acide folique, de chélateur de fer, et de l'érythropoïétine dans différentes séries.

Tableau 24 : Nombre des cas transfusés dans différentes séries.

Tableau 25 : Indications de la splénectomie et complications après la chirurgie.

Tableau 26 : Nombre des patients cholécystectomisés dans différentes séries.

Tableau 27 : Incidence de la lithiase biliaire dans différentes séries.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Membrane érythrocytaire.

Figure 2: Phosphatidylcholine.

Figure 3: Cholestérol.

Figure 4: Glycolipides.

Figure 5: Electrophorégramme en gel SDS-polyacrylamide des protéines membranaires des hématies humaines.

Figure 6: Polymérisation du monomère de la protéine globulaire de l'actine (actine G) en filaments (actine F).

Figure 7: Coupe transversale du squelette érythrocytaire.

Figure 8: Observation au microscope à balayage électronique des globules rouges d'un sujet sain (A) et d'un sujet atteint de sphérocytose héréditaire (B).

Figure 9: Illustration de la transmission autosomique dominante.

Figure 10: Illustration de la transmission autosomique récessive.

Figure 11: Histogramme des distributions des volumes et des concentrations en hémoglobine.

Figure 12: Frottis sanguin montrant la présence des sphérocytes.

Figure 13: Frottis sanguin montrant l'association des sphérocytes et d'acanthocytes.

Figure 14: Frottis sanguin montrant : A) : sphérocytes en « champignon ». B) : association hématie « champignons » et sphérocytes.

Figure 15: Courbe montrant la fragilité osmotique des érythrocytes normaux et celle des érythrocytes issus d'un patient atteint de la sphérocytose héréditaire.

Figure 16: Ektacytométrie en gradient osmolaire chez un sujet atteint de la sphérocytose héréditaire.

Figure 17: Ektacytométrie en gradient osmolaire montrant des courbes de déformabilité des globules rouges de 3 patients atteints de sphérocytose héréditaire.

Figure 18: A : Profil électrophorétique des protéines membranaires érythrocytaires séparées selon la technique de Fairbanks. B : Aspect qualitatif : anomalie de migration de la Band 3 dans les CDAlI.

Figure 19: Frottis sanguin montrant un elliptocyte.

Figure 20: Histogramme de distribution des volumes érythrocytaires montrant l'existence de petites hématies.

Figure 21: Frottis sanguin montrant une grande poikilocytose.

Figure 22: Ektacytométrie montrant une réduction de la fluorescence dans pyropoikilocytose héréditaire.

Figure 23: Frottis sanguin montrant un des stomocytes.

Figure 24: Frottis sanguin montrant des ovalocytes avec une fente transversale centrale.

Figure 25: Ektacytométrie montrant une perte totale de la déformabilité élastique dans l'ovalocytose Sud -Est asiatique.

Figure 26: Evolution de la concentration d'hémoglobine (g/l) et des réticulocytes (G/l) en fonction de l'âge de l'enfant.

Figure 27: Incidence de la croissance du moignon splénique dans la splénectomie subtotale.

Figure 28: Echographie abdominale montrant une lithiase biliaire.

Figure 29: Photo montrant : (A) Deux grands ulcères polycycliques sur la partie inférieure de la jambe gauche. (B) Lésion superficielle hémorragique se produisant sur la peau adjacente au bout de 2 mois de traitement. (C) Guérison complète de la lésion après 5 mois de traitement.

## I. INTRODUCTION :

La sphérocytose héréditaire (SH) ou la maladie de Minkowski Chauffard est la plus fréquente des anémies hémolytiques constitutionnelles rencontrées en Europe et en Amérique du Nord. Son incidence est d'environ un cas pour 5000 naissances. Elle est due à une anomalie du cytosquelette sous-membranaire responsable d'une perte de la surface membranaire, d'une concentration cellulaire élevée en hémoglobine (Hb) et d'une réduction de la déformabilité des hématies [1,2]. Sa transmission est habituellement autosomique dominante, mais dans 25 à 35% des cas, aucune anomalie hématologique caractéristique n'est retrouvée chez les deux parents [2,3].

La SH est très hétérogène en ce qui concerne l'expression clinique. Elle se manifeste à tout âge, depuis la période néonatale jusqu'au troisième âge [2]. Son diagnostic est en général aisé lorsqu'il existe des antécédents familiaux. Il repose toujours sur des signes cliniques et biologiques d'hémolyse chronique associé à un faisceau d'arguments étiologiques [1]. Il existe une grande variabilité concernant le début des symptômes ou leur gravité. La grande majorité des patients atteints de la SH sont porteurs d'une anémie modérée, mais la maladie peut rester méconnue et découverte à l'occasion d'une crise de déglobulisation [2].

L'évolution spontanée de cette affection se fait sur un mode chronique. L'anémie de base est souvent bien tolérée du fait d'une hémolyse compensée. En général, la SH est une maladie bénigne compatible avec une espérance de vie à peu près normale, elle peut ne présenter aucun signe et n'être découverte que lors d'un bilan systématique [4], mais la maladie peut également surgir suite à une série de complications : crise d'érythroblastopénie, lithiase biliaire, retard de croissance et de développement et plus rarement l'ulcère des jambes et l'hématopoïèse extra-médullaire [1].

Malgré que cette affection soit grevée d'une importante morbi-mortalité, la situation de la SH au Maroc est mal connue par manque du registre national. Sa prise en charge comprend deux volets essentiels : un traitement symptomatique basé sur la transfusion et la supplémentation en folates, et un traitement curatif basé sur la splénectomie totale ou subtotale. La surveillance clinique et hématologique attentive est nécessaire afin d'éviter la rechute et les complications potentielles.

Le présent travail est une étude rétrospective portant sur tous les cas suivis au sein de l'unité d'hématologie et d'oncologie, du service de pédiatrie du CHU Hassan II Fès, durant une période de 5 ans s'étalant de Janvier 2011 à Janvier 2016.

L'objectif de notre travail est de :

- ✓ Rapporter notre expérience en matière de prise en charge de la maladie de Minkowski Chauffard chez l'enfant,
- ✓ Analyser les particularités épidémiologiques, cliniques, biologiques, thérapeutiques, et évolutives des patients porteurs d'une maladie de Minkowski Chauffard,
- ✓ Evaluer les complications et leur prise en charge,
- ✓ Etablir un protocole de prise en charge des patients adapté à notre contexte.

## II. RAPPEL PHYSIOPATHOLOGIQUE :

Le globule rouge (GR), encore appelé hématie ou érythrocyte, a très tôt attiré l'attention des physiologistes et des expérimentés. Découvert dès le 17ème siècle (en 1658) par le célèbre naturaliste l'allemand Jan Swammerdam, puis fut parfaitement décrit par Leeuwenhoek qui mit en évidence sa géométrie cellulaire [5,6], le GR est de forme discoïde, de 7 micromètres de diamètre, a un rapport surface/volume (S/V) élevé à l'origine d'un surplus important de membrane et de cytosquelette.

Au cours des 120 jours de son existence, le GR doit se faufiler dans la microcirculation et négocier le franchissement d'étroits capillaires, particulièrement, les sinus spléniques qui n'ont que 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre. Pour ce faire, il possède une déformabilité passive et une élasticité remarquable qui lui permet de supporter les variations d'osmolarité et subir les turbulences sanguines régnant dans les gros vaisseaux [2,7]. Cette cellule mature de la lignée érythrocytaire ne possède pas de noyau, donc pas de matériel génétique et chromosomique, elle est réduite à un cytoplasme constitué essentiellement d'hémoglobine et à une membrane érythrocytaire comportant une bicouche lipidique sous laquelle est ancré un réseau bidimensionnel de protéines et de squelette [8,9].

La membrane érythrocytaire (Figure 1) ou stroma ou « Ghost » (en terminologie anglo-saxonne) assure au GR sa forme biconcave, sa plasticité et sa déformabilité. Elle permet l'intégrité du milieu intérieur et contient les principales enzymes des métabolismes permettant de lutter contre l'inflation hydro-sodée continue en assurant le fonctionnement des pompes à sodium [9]. Elle renferme 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de glucose intriqués dans une structure complexe [10]. Les lipides forment une double couche de phospholipides opposés par leur côté hydrophobe (non polaire), alors que les parties hydrophiles (polaires) sont rejetées vers l'extérieur. Dans cette bicouche phospholipidique baignent deux types de protéines :

§ Les protéines extrinsèques (situées au niveau du feuillet interne lipidique) constituent l'armature du squelette érythrocytaire responsable de la forme et la déformabilité du GR, et dont l'altération modifie dans une large mesure la morphologie des érythrocytes par une fragmentation de la membrane en petites vésicules.

§ Les protéines intrinsèques ou transmembranaires, qui traversent de part en part la double couche lipidique, facilitent les échanges du GR avec le milieu extérieur et assurent sa stabilité en se fixant sur les protéines du cytosquelette. Ces protéines sont nommées en fonction de leur mobilité au cours de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) [4,9,11].

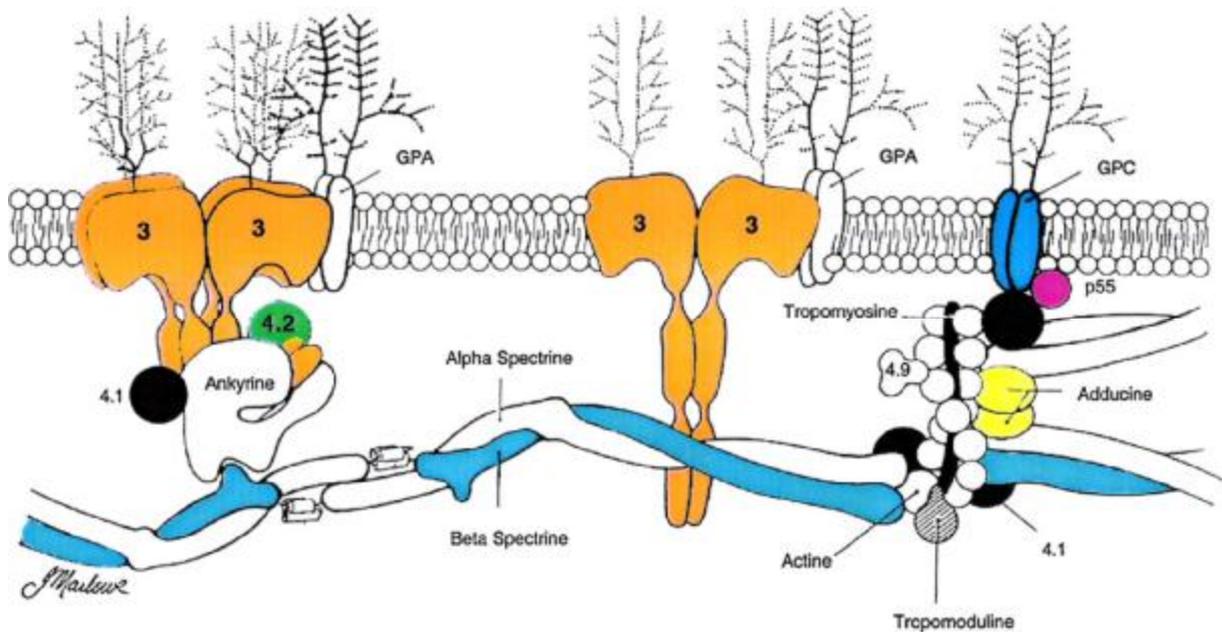


Figure 1 : Membrane érythrocytaire (GPA : glycophorine A, GPC : glycophorine C)

[12].

## 1. COMPOSITION DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE:

### 1.1. Bicouche lipidique :

Les lipides membranaires forment une bicouche qui fut mise en évidence en 1925. Les expérimentateurs conclurent que les lipides membranaires sont arrangés en bicouche continue. Ceci est confirmé par des méthodes plus récentes (diffraction des rayons-X et cryofracture qui permet de séparer les deux feuillets constituant toutes les membranes cellulaires) [13].

Les lipides représentent environ 40% des membranes totales. Les principaux constituants sont : les phospholipides (65 à 70% des lipides totaux) et le cholestérol (20 à 25%). Il existe en outre de faibles quantités d'acides gras libres et de glycolipides dont certains sont porteurs d'antigènes de groupes sanguins. Ces lipides sont dits amphipathiques (Amphiphiles=bipolaires) car ils possèdent un groupe polaire ou hydrophile et un groupe apolaire ou hydrophobe [10,14].

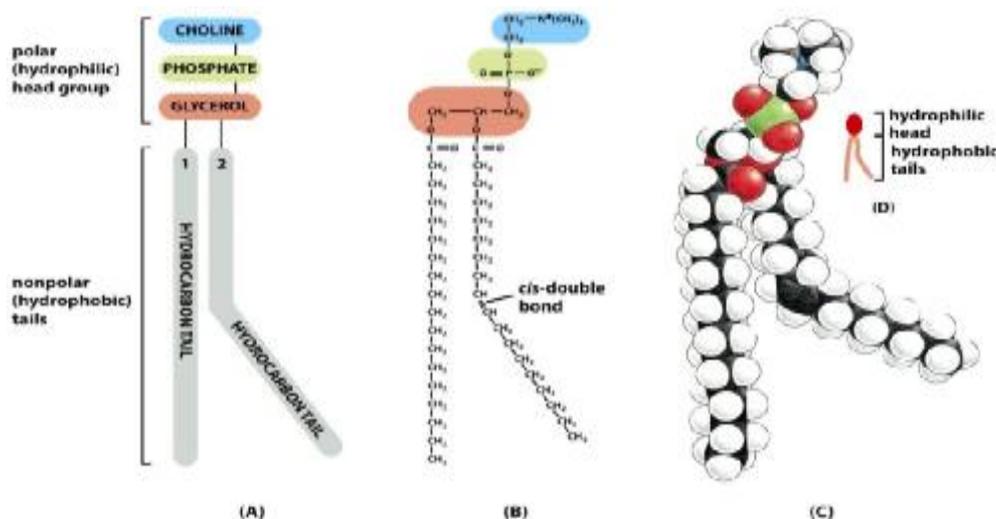
#### 1.1.1. Phospholipides :

Les phospholipides prédominants (tableau 1) sont: La phosphatidylcholine (30%) ; la phosphatidyléthanolamine (27%) ; la sphingomyéline (20-25%) ; la phosphatidylsérine (13,5%) ; l'acide phosphatidique (2%) ; la phosphatidyl inositol et labiphosphate (2%) [14,15].

**Tableau 1** : Composition lipidique approximative de différentes membranes cellulaires (Pourcentage de lipides totaux par rapport au poids) [14].

PERCENTAGE OF TOTAL LIPID BY WEIGHT						
LIPID	LIVER CELL PLASMA MEMBRANE	RED BLOOD CELL PLASMA MEMBRANE	MYELIN	MITOCHONDRION (INNER AND OUTER MEMBRANES)	ENDOPLASMIC RETICULUM	E. COLI BACTERIUM
Cholesterol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidylethanolamine	7	18	15	25	17	70
Phosphatidylserine	4	7	9	2	5	trace
Phosphatidylcholine	24	17	10	39	40	0
Sphingomyelin	19	18	8	0	5	0
Glycolipids	7	3	28	trace	trace	0
Others	22	13	8	21	27	30

Les phospholipides (Figure 2) sont disposés de manière asymétrique dans la double couche. La phosphatidylcholine et la sphingomyéline étant orientées vers l'extérieur de la cellule, alors que tous les phospholipides contenant un groupement aminé terminal (phosphatidyléthanolamine et phosphatidylsérine) sont à l'intérieur [16].



**Figure 2:** La phosphatidylcholine:

a) : Représentation schématique ; b) : Formule ; c) : Modèle dans l'espace [14].

L'asymétrie demeure stable durant toute la vie du GR (120 jours) grâce au phénomène de flip-flop (passage des phospholipides d'un feuillet à l'autre de la bicouche) assuré par les enzymes ATP (adénosines triphosphates) dépendantes et les translocases. La perte de l'asymétrie s'accompagne d'une augmentation de l'adhésivité des hématies aux endothéliums vasculaires. Les flippases catalysent le retour des aminophospholipides du feuillet externe vers le feuillet interne. Les scramblases jouent un rôle opposé : la scramblase 1, activée par la phosphorylation d'une protéine kinase C, accélère la migration bidirectionnelle à travers la bicouche des phospholipides. Ceci participe à la formation du caillot de fibrine d'où l'association de plusieurs maladies génétiques de la membrane érythrocytaire à un état plus ou moins prononcé d'hypercoagulabilité. Les flippases et les scramblases-1 sont également impliquées dans les mécanismes complexes d'apoptose des GR. Le stress oxydatif induit par la t-butylhydroperoxyde active la caspase 3 ce qui entraîne la diminution des flippases. Les phosphatidylsérines sont alors externalisées, ce qui doit être propice à l'érythrophagocytose [12,14,17].

### 1.1.2. Cholestérol :

Le cholestérol (figure 3) et ses esters appartiennent à la classe des stéroïdes. Ils possèdent en commun un noyau cyclopentane phénanthrénique et représentent 30 à 50% des lipides membranaires. Le cholestérol se répartit de part et d'autre de la bicouche lipidique. Il fluidifie la membrane en empêchant sa gélification et la cristallisation des acides gras. Son groupement stéroïde contribue à une rigidité de la partie supérieure des chaînes aliphatiques, assurant ainsi la stabilité mécanique de la membrane [14,18].

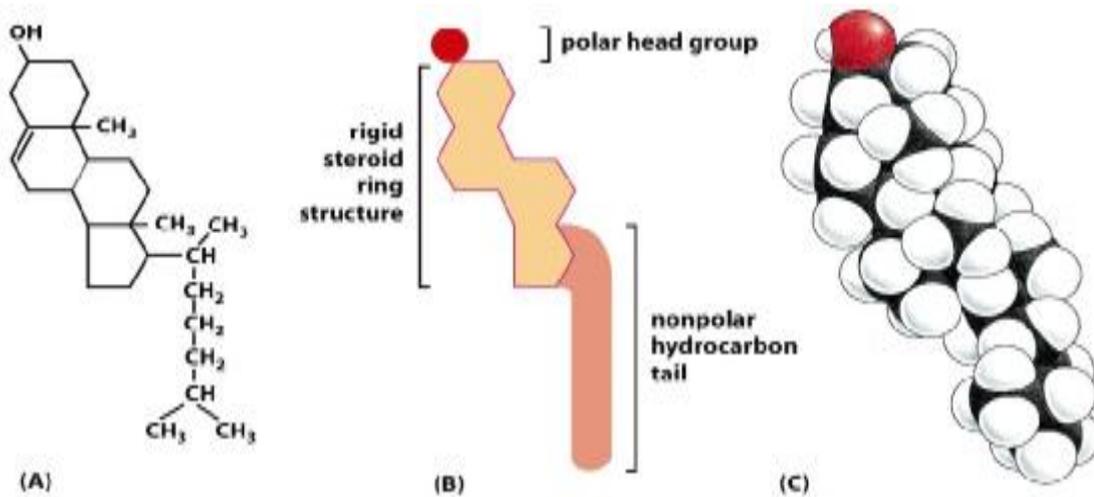


Figure 3 : Cholestérol [14].

A) : Formule du cholestérol ; B) : Représentation schématique ; C) : Représentation dans l'espace).

### 1.1.3. Glycolipides :

Les glycolipides érythrocytaires (Figure 4) ressemblent aux phospholipides dans leur composition bien qu'ils soient dépourvus de phosphate. Ils sont localisés dans le feuillet externe de la couche lipidique, et leurs groupements glycaniques baignent dans le milieu extérieur. Ils se distinguent les uns des autres par leur groupement polaire constitué d'un ou de plusieurs résidus de sucres.

Les glycolipides neutres sont les plus nombreux dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Leur groupement apical polaire est constitué d'un à 15 sucres neutres (non chargés) suivant le type de cellule et l'organisme. Les glycolipides les plus complexes sont les gangliosides. Ils contiennent un ou plusieurs résidus d'acide sialique (encore appelé acide N-acétylneuraminique [NANA]) qui leur confèrent une charge nettement négative [14,19].

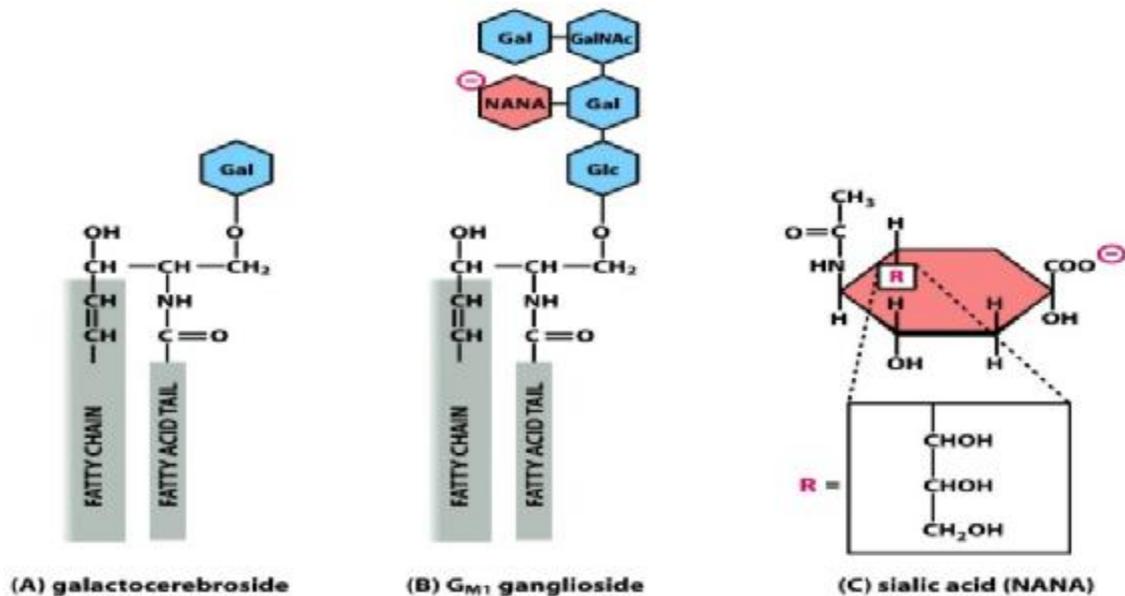


Figure 4 : Glycolipides:

(A) : Formule de galactocerebroside (glycolipide neutre) ; (B) : Formule de ganglioside (glycolipide complexe), (C) : NANA : N-acetyl neuraminic acid) [14].

## 1.2. Protéines membranaires :

Bien que les lipides aient un rôle principal dans la structure de la membrane plasmique, les protéines membranaires en assurent la quasi-totalité des fonctions. Elles servent entre autre, de récepteurs spécifiques, d'enzymes et de transporteurs. Elles vont participer à la courbure et à la stabilité traduisant la dynamique fonctionnelle des membranes. L'inventaire des protéines d'hématies par électrophorèse sur gel polyacrylamide (figure 5) montre que leur poids moléculaire (PM) varie entre 220000 et 240000 daltons (Da). Les protéines qui sont parfois de très longs polymères, possèdent une chaîne polypeptidique avec une extrémité amino-terminale (NH<sub>2</sub>) et une extrémité carboxy-terminale (COOH). Elles changent de forme suivant les conditions de l'environnement.

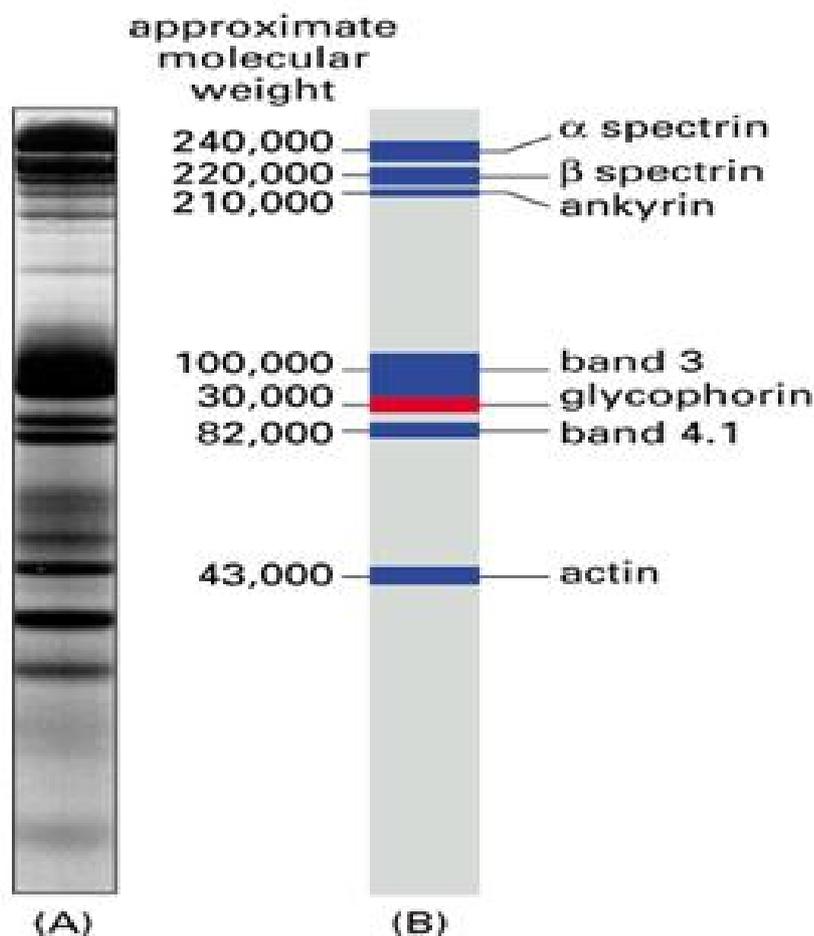
Les composants protéiques s'échelonnent selon leur masse moléculaire décroissante. De haut en bas du gel on trouve deux bandes lourdes répondant aux monomères  $\alpha$  et  $\beta$  de la spectrine de PM apparent de 220 000 et 240 000 Da. Juste

en dessous de  $\beta$ , la bande 210 kilodaltons (KDa) de l'ankyrine n'est séparée de  $\beta$  que dans la technique de Fairbanks. Le 3ème composant principal est la bande 3 ou canal des anions, de PM 95 000 Da, la tache bien limitée vers les PM plus faibles, est plus diffuse vers le haut du gel du fait de l'hétérogénéité des radicaux glucidiques de la bande 3 qui ont des charges électriques peu différentes [11,15,16].

Entre la bande de l'ankyrine et la bande 3 se trouvent des constituants mineurs 2.1, 2.2 et 2.6 dérivés de l'ankyrine. Vers les PM plus faibles se trouvent : la bande 4.1, divisée dans la technique de Laemmli en 4.1a de PM 82 000 Da et 4.1b de PM 78 000 Da, puis la protéine 4.2 (appelée pallidine) de PM 72000 Da, la protéine 5 est le monomère de l'actine de PM 43000 Da, juste au-dessus d'elle, plus ou moins bien identifiable, la bande 4.9 (appelée dématine). Plus bas, la bande 6 est le monomère de la 3-phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase, enzyme cytosolique qui reste attachée à la membrane dans la solution hypotonique de préparation des ghosts. Vers les PM plus faibles, la bande 7 est divisée en 3 petites bandes. Lorsque les membranes ne sont pas complètement déplétées en Hb, celle-ci se place en bas de gel sous forme de monomère de globine (PM 17 000 Da). Des bandes mineures existent entre les constituants majeurs, elles sont difficiles à identifier du fait de leur faible quantité, c'est le cas du doublet, de l'adducine de PM voisin de 100 KDa et de la bande 4.5 du transporteur en glucose [15]. Lorsque les gels sont colorés par la réaction à l'acide périodique Schiff ou à l'argent, plusieurs bandes de glycoprotéines apparaissent qui correspondent aux glycophorines [20].

Les principales protéines extrinsèques sont la spectrine, l'ankyrine, l'actine, la protéine 4.1 et, de façon marginale, la protéine 4.2 [11]. Elles s'entrelacent pour former un maillage protéique. La spectrine est le composant majeur. C'est une longue protéine filamenteuse constituée de deux chaînes polypeptidiques,  $\alpha$  et  $\beta$  qui sont codées par des gènes différents. Les deux chaînes s'associent de façon antiparallèle

pour former des hétérodimères et des tétramères. Chaque maille du filet ainsi formée est idéalement un hexagone dont les cotés sont formés par six tétramères de spectrine. Ils s'unissent à d'autres molécules de spectrine à leur extrémité distale par l'intermédiaire de filaments d'actine [2,11,16].



**Figure 5** : Electrophorégramme en gel SDS-polyacrylamide des protéines membranaires des hématies humaines [14].

(A) : Observation du gel, après coloration au bleu de Coomassie (D'après Marchesi et al 1976).

(B) : Schéma des différentes protéines observées sur le gel bandes sont numérotées selon la nomenclature de Fairbanks et al (1971).

On peut distinguer deux classes de protéines membranaires selon un critère d'extraction :

- D'une part, les protéines intrinsèques (ou intégrales ou transmembranaires) qui sont insolubles dans les solvants aqueux et qu'on ne peut extraire que si l'on déstabilise suffisamment la membrane avec des détergents.
- D'autre part, les protéines extrinsèques (ou périphériques) extractibles par des solutions tamponnées acide ou basique si la force ionique est suffisamment élevée [4,11,21].

### 1.2.1. Protéines transmembranaires :

Les protéines transmembranaires traversent la membrane hydrophobe par une séquence particulière de 20 à 30 acides aminés agencés en hélice alpha. Au sein de cette structure, les interactions hydrophiles (liaisons hydrogènes) se produisent à l'intérieur, tandis que l'extérieur de l'hélice- $\alpha$  est hydrophobe et donc compatible avec l'environnement apolaire lipidique. Les segments d'hydrophobicité sont identifiables grâce à leur profil d'hydropathie. Ces protéines ne peuvent être solubilisées qu'en présence de détergents forts ou de solvants organiques.

Les protéines transmembranaires comportent généralement trois parties : Le domaine extracellulaire est le plus souvent glycosylé et porte les antigènes de groupes sanguins. Le domaine intramembranaire est très hydrophobe et traverse la bicouche soit en une ou plusieurs hélices alpha soit en tonneau beta. Le domaine cytoplasmique qui se lie avec les protéines périphériques. Ces protéines sont représentées par les bandes 3 et 4,5 et par des sialoglycoprotéines qui, à cause de leurs contenus élevés en acide neuraminique, réagissent avec le réactif de schiff qui s'associe à l'oxydation par l'acide périodique, la fuschicine bisulfitee [21,22].

### 1.2.2. Squelette membranaire :

Le squelette érythrocytaire est un assemblage de protéines entrelacées en mailles régulières tapissant la face interne de la membrane plasmique. Il confère aux hématies la souplesse et la résistance qui leur sont nécessaires. Ses protéines, principalement la spectrine, l'actine et la protéine 4.1 [7,23].

#### A. Spectrine :

La spectrine érythroïde a été isolée par L. Cioe et P. Curtis en 1985 à partir d'une banque érythroïde murine. C'est le composant majeur du squelette. Elle représente 25% de la masse totale des protéines sous membranaires [4,24]. Ses propriétés élastiques en font un élément essentiel. Il en existe 200000 copies par cellule. La spectrine est une protéine hétérodimérique fibrillaire composée de deux chaînes hautement homologues,  $\alpha$  et  $\beta$ , enroulées l'une sur l'autre en hélice pour former un dimère  $\alpha\beta$ . Les brins  $\alpha$  et  $\beta$  ont un PM respectivement de 280 kDa à 246 kDa. Ils sont codés par deux gènes SPTA1 (spectrin alpha erythrocytic1) et SPTB (spectrin beta erythrocytic), situés sur les chromosomes 1q22-q23 et 14q23-q24.2 [23,25].

#### B. Ankyrine :

L'ankyrine est la principale protéine d'ancrage du squelette membranaire. Elle a un PM de 210 kDa, et contient 1880 acides aminés. Elle est codée par le gène ANK1 (Ankyrin 1) situé sur le bras court du chromosome 8 dans la région 11.2 et contenant 42 exons. Son architecture modulaire et sa capacité à interagir avec de nombreuses protéines, organise et stabilise le cytosquelette.

En outre, de nouvelles fonctions aujourd'hui attribuées à l'ankyrine incluent la biogénèse membranaire et la formation de barrières de diffusion qui maintiennent la polarité subcellulaire [23,26].

### C. Actine :

Découverte au début des années 40, il s'agit d'une protéine globulaire, appelée actine G, constituée d'une chaîne polypeptidique unique de 375 acides aminés. Elle apparaît comme l'une des protéines les mieux conservées au cours de la phylogenèse. On distingue six isoformes qui ne diffèrent que par quelques acides aminés et s'expriment d'une façon indépendante de l'espèce, mais spécifique du tissu cellulaire et du stade de développement. Il s'agit de quatre isoformes  $\alpha$  musculaires, et de deux isoformes cytoplasmiques non musculaires (actines  $\beta$  et  $\gamma$ ).

L'actine érythrocytaire de type beta non musculaire, se présente sous forme de protofilaments formés par la polymérisation de 12 à 17 monomères d'actine. Ces filaments ont une structure hélicoïdale et une longueur de 30 à 40 nm. La limitation de polymérisation est due à la protéine 4.9 considérée comme la molécule de coiffage d'actine. (Elle encapuchonne les moignons d'actine et évite l'apparition de microfilaments inutiles). L'actine F (figure 6) est directement reliée à la spectrine en formant le complexe de la jonction qui assure la continuité entre le cytosquelette et la membrane plasmique. Ceux-ci participent à de nombreux processus biologiques vitaux tels que la motilité cellulaire, la contraction musculaire et la mise en place du cytosquelette [4,15,27].

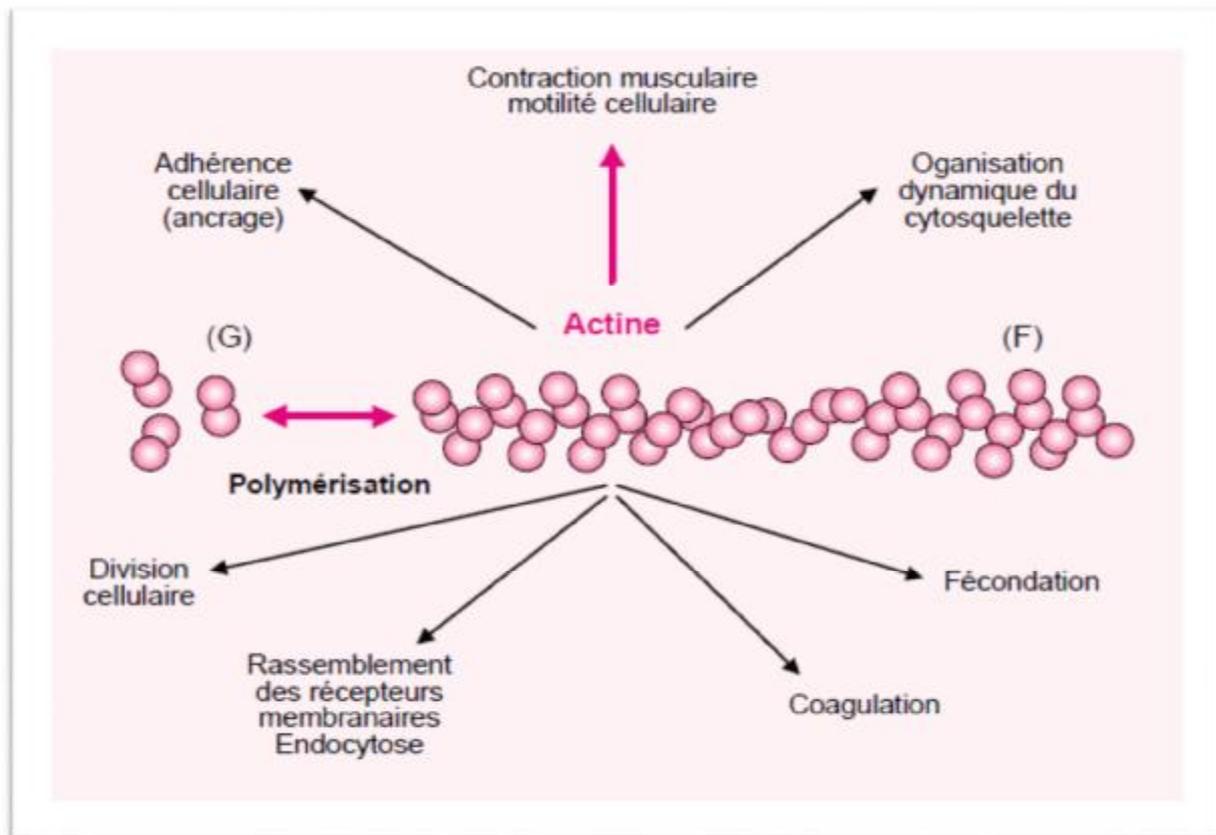


Figure 6 : Polymérisation du monomère de la protéine globulaire de l'actine (actine G) en filaments (actine F) [27].

#### D. Protéine 4.1 ou 4.1R :

La protéine 4.1 érythrocytaire, que nous appelons dorénavant 4.1R pour la distinguer de trois nouvelles protéines 4.1 apparentées, est une phosphoprotéine de 80 kDa, abondamment exprimée dans le GR (200 000 copies/érythrocyte). Le gène codant pour cette protéine est localisé au niveau du chromosome 1p33-p34.2.

La protéine 4.1 R confère au GR sa déformabilité et sa résistance mécanique au stress circulatoire. Elle ne constitue non seulement un support structural pour les membranes cellulaires, mais elle joue aussi un rôle primordial dans le fonctionnement cellulaire, spécialement dans le triage des protéines au sein du reticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi, la réorganisation dynamique du noyau lors de la division cellulaire ou bien encore la régulation de fonctions de protéines

transmembranaires telles que certains canaux ioniques ou d'enzymes interagissant avec la membrane [23,28,29].

#### E. Protéine 4.2 :

La protéine 4.2 (691 acides aminés) existe à raison de 200000 copies par érythrocyte. Sa cartographie est mal établie. C'est une protéine périphérique de 72 kDa, codée par un gène EPB 42 (Erythrocyte membrane protein band4). Elle est située sur le chromosome 15 (q15 à q21) et est formée de 13 exons et 12 introns. La fonction directe de cette protéine n'est pas claire, à part son interaction avec la protéine bande 3, qui pourrait stabiliser celle avec l'ankyrine 18. Les acides aminés 61 à 75 sont essentiels pour cette interaction. D'autres interactions possibles seraient celles avec les protéines 4.1 et l'ankyrine, qui pourraient expliquer l'effet physiopathologique des mutations de cette protéine du squelette [23,30].

#### F. Adducine :

C'est une protéine qui se lie à l'actine et qui est considérée comme étant le facteur régulateur de la formation des réseaux spectrine-actine. Elle est localisée à la jonction des tétramères de spectrine avec les filaments d'actine et a été purifiée, initialement, à cause de sa capacité à se lier à la calmoduline. Il y a trois gènes apparentés qui codent l'adducine  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  qui sont exprimés dans de nombreux tissus. Dans l'érythrocyte, l'adducine est présente sous la forme d'hétéromère, formée par l'association de sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ . Toutes ces formes ont la même structure moléculaire : un domaine globulaire N-terminal de 39 kDa (résidus 1-354), résistant aux protéases nommés tête, qui est connecté par un domaine de 9 kDa (résidus 355-435) nommé cou à une queue sensible aux protéases, formant la région C-terminale de 33 kDa (Résidus 436-726). La portion C-terminale de chaque molécule contient une série de 22 acides aminés fortement basiques, dont la séquence est similaire au domaine de la protéine MARKS. Cette région est nécessaire pour les interactions de

l'adducine avec l'actine et la spectrine. Au même niveau, on trouve le site de liaison de la calmoduline et le site de phosphorylation (sérine-RTPS) par la protéine kinase C et la protéine kinase A dépendante (AMPc). La phosphorylation de ce site a pour effet l'inhibition de la liaison à la calmoduline de l'adducine. Une fois formé, le complexe adducine-calmoduline permet une régulation par l'ion calcium de l'activité de stoppage (capping) des filaments d'actine et de recrutement de la spectrine pour l'association avec l'actine [4,23,31,32].

#### G. Dématine, ou protéine 4.9 :

Est un dimère formé de deux polypeptides de 48 et 52 kDa dont il existe 43 000 copies par cellule, ce qui est identique au nombre de protofilaments d'actine qu'elle ficelle, d'où son nom de « actin-bundling protein ». Elle est hautement phosphorylable par la protéine kinase AMPc dépendante, la phosphorylation inhibant son action vis-à-vis de l'actine. Elle doit être distinguée de la p55, polypeptide dont on a cru qu'il faisait partie de la dématine et qui possède un domaine SH3 (du Sarc) et une activité guanylate kinase. Son rôle est entièrement différent de celui de la dématine [4,15,32].

#### H. Tropomyosine :

C'est un dimère de 60 kDa, analogue à la tropomyosine musculaire. Elle représente 1% des protéines membranaires en 70 000 à 80 000 copies, ce qui fournit deux molécules de tropomyosine pour chaque microfilament d'actine, chaque molécule se liant à 6 ou 7 monomères d'actine. Elle inhiberait la liaison spectrine-filaments d'actine et stabiliserait les filaments d'actine [15].

#### I. Tropomoduline :

C'est un polypeptide de 43 kDa dont 2 molécules se fixent aux molécules de tropomyosine. Il modulerait l'interaction de la tropomyosine avec la  $\beta$ -actine [15].

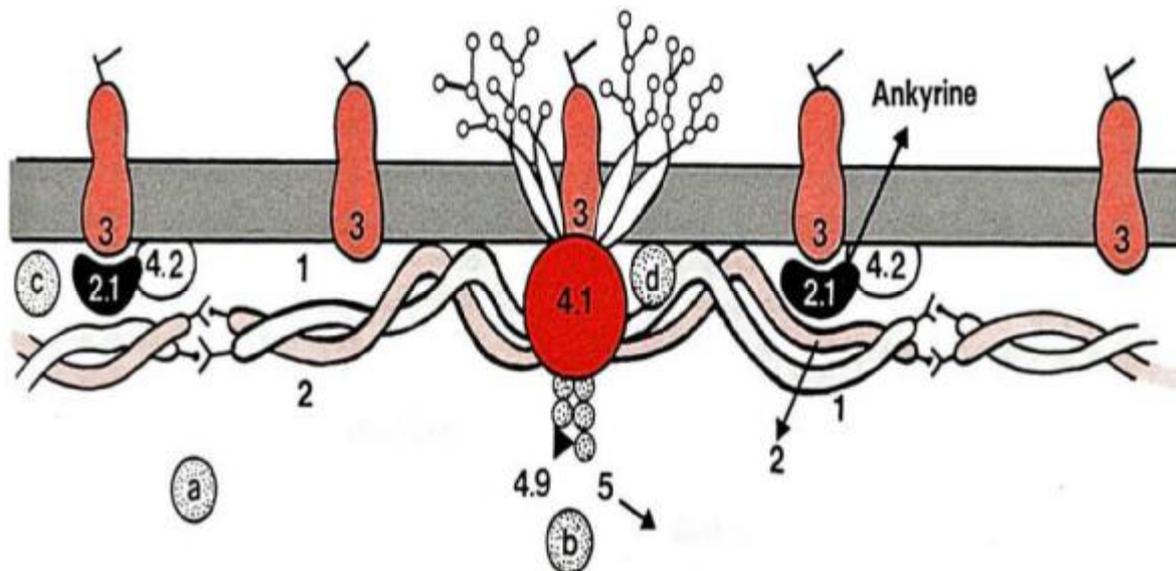
## 2. INTERACTION ENTRE DIVERS CONSTITUTANS DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE :

Les données cliniques démontrent clairement l'importance cruciale de la forme des érythrocytes pour leur fonction principale de transport de l'oxygène. Cette forme discoïdale biconcave assure la plus grande surface possible et, en même temps, une très grande déformabilité et une résistance accrue aux forces hydrodynamiques complexes auxquelles, les hématies sont soumises dans la circulation sanguine. Il est généralement admis que cette forme dépend du squelette membranaire. Ce dernier apparaît en microscope électronique sous forme d'un filet protéique souple feutrant la face cytosolique de la membrane. Il possède trois composants majeurs qui s'articulent à travers des interactions dites horizontales et d'autres verticales (figure 7) [7,33].

§ Les interactions horizontales constituent la trame du cytosquelette et forment un réseau aux mailles régulières. La première interaction est assurée par l'association tête à tête des deux dimères de la spectrine en tétramère. Elle met en jeu les régions N-terminales (domaine  $\alpha 1$ ) de la chaîne  $\alpha$ . L'importance des interactions entre les dimères de la spectrine tient au fait que les anomalies de tetramerisation s'accompagnent en général d'une fragilité du cytosquelette qui conduit à la perte de fragments membranaires et à une hémolyse pathologique. La seconde interaction correspond à la fixation de l'actine à la partie caudale du dimère de la spectrine (domaine  $\alpha V$  et  $\beta 1V$ ) par l'intervention de la protéine 4.1. L'ensemble forme le complexe ternaire. L'adducine, protéine liant la calmoduline, resserrerait également la liaison actine-spectrine. A noter que la région caudale de la spectrine a des homologues structurales avec l' $\alpha$  actinine et avec la région N-terminale de la dystrophine (la structure récurrente globale de la spectrine constituant une autre ressemblance avec la dystrophine) [7,33].

§ Les interactions verticales fixent le réseau protéique sur la couche lipidique. Les principales protéines impliquées sont la protéine bande 3, l'ankyrine, la spectrine et la protéine 4.2. A 20 nm de son site d'auto-association, la spectrine (domaine

$\beta$  II) interagit avec la portion cytoplasmique (43 kDa) de la bande 3. Par sa portion transmembranaire, la bande 3, glycoprotéine dont il existe 1000000 copies par hématie, catalyse la diffusion des anions  $\text{Cl}^-$  et  $\text{HCO}_3^-$ . Pour autant, le contact spectrine fragment 43 kDa n'est pas direct, mais se fait par l'entremise d'une tierce protéine appelée ankyrine. Celle-ci a trois domaines, définis à nouveau par leurs PM : 89, 67 et 55 kDa. Le premier interagit avec la bande 3, le second avec la spectrine. Une autre protéine encore intervient, nommée protéine 4.2, qui module l'interaction ankyrine-bande 3. A noter que la protéine 4.2 comporte des homologues de séquence avec des transglutaminases sans néanmoins présenter cette activité enzymatique. L'autre interaction verticale met en jeu la protéine 4.1 (domaine 30 kDa) et le fragment 43 kDa de la bande 3 et la portion cytoplasmique de sialoglycoprotéines (glycophonines), protéines lourdement sialylées dans leur partie extracellulaire et portant différents antigènes des groupes sanguins [7,33] Glycophorine A.B et C



**Figure 7** : Coupe transversale du squelette érythrocytaire.

- (1) : chaîne  $\alpha$  de la spectrine ; (2) : chaîne  $\beta$  de la spectrine  
 (a) : site d'autoassociation du dimère de la spectrine ; (b) : complexe ternaire « spectrine, actine, protéine 4.1 » ; (c) : articulation « spectrine, ankyrine, protéine 4.2, bande 3 » ; (d) : interaction de la protéine 4.1 avec la bande 3 et les glycophorines [7].

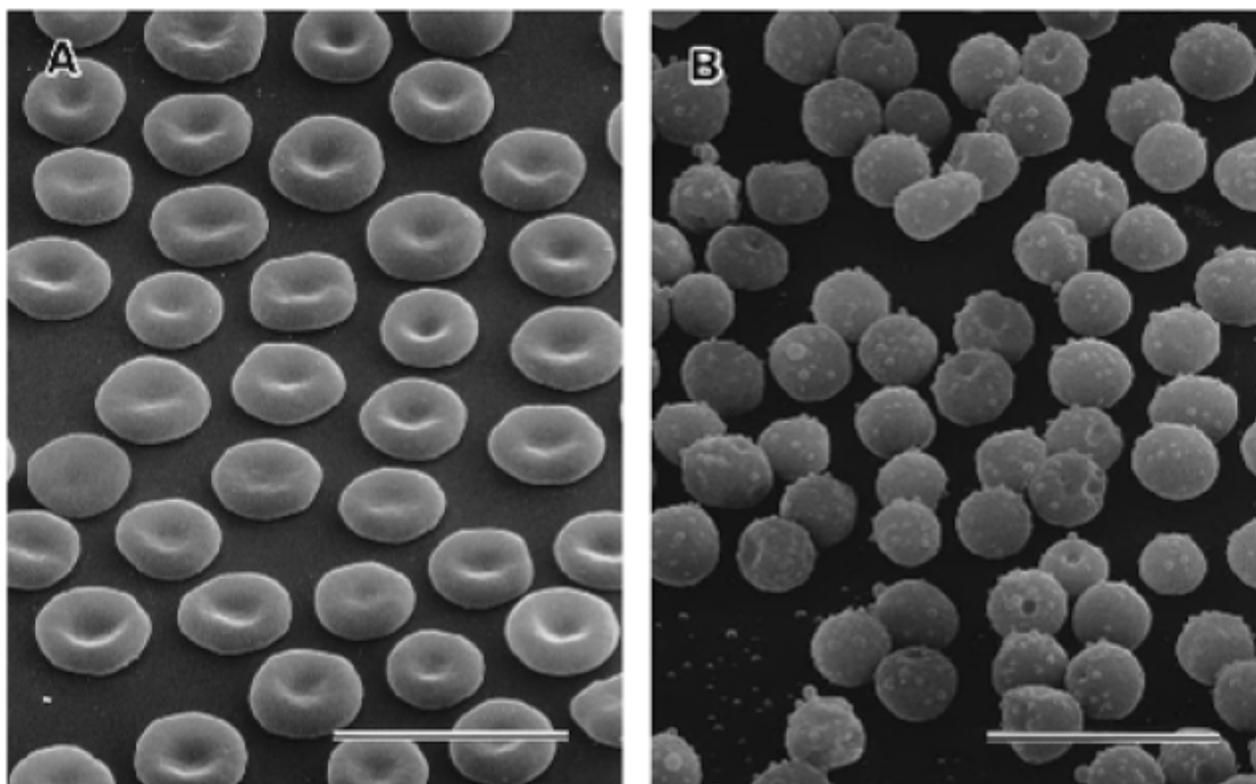
### 3. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE:

Au cours de sa vie dans la circulation, le GR accomplit, pendant 120 jours, la tâche indispensable de livraison de l'oxygène aux tissus. Pour accomplir cette mission, il doit traverser des obstacles, en particulier des micro-capillaires ou des pores de sinus vasculaires qui lui imposent de passer par des détroits et des labyrinthes dont le diamètre est très inférieur au sien : le diamètre du GR est de 7 microns mais il peut traverser des pores de 1, voire 0,5 microns. Cette adaptation de la microcirculation, essentielle pour assurer la survie cellulaire, n'est possible pour le GR que grâce à des propriétés physiques très particulières : déformabilité et élasticité, qui lui permettent de se déformer lors de la traversée des obstacles et de retrouver, dès que s'arrêtent les contraintes, sa forme biconcave [2,4].

Le GR est un sac dont le contenu, l'hémoglobine, est fluide. Le sac lui-même a un rapport S/V très important qui permet une déformabilité optimale (un ballon mal gonflé se déforme mieux qu'un ballon bien gonflé), et une membrane déformable et élastique. Toute atteinte de ce système : augmentation de la concentration en hémoglobine, diminution du rapport S/V par perte de surface, rigidité membranaire, se solde par une diminution de la déformabilité des érythrocytes et leur destruction prématurée au sein des lieux de ralentissement et de contraintes physiques, principalement la rate [2,4].

La SH est due à un déficit quantitatif ou qualitatif de l'une des protéines membranaires impliquées dans l'attachement du cytosquelette à la membrane du GR : l'ankyrine, la bande 3, la spectrine, la protéine 4.2 [12]. Quelle que soit la protéine responsable, son déficit aboutit à une déstabilisation de la bicouche lipidique, avec comme conséquence une augmentation de la perméabilité aux cations monovalents et de l'ATPase qui gouverne leur échange. L'absorption accrue des ions sodiques favorise l'entrée d'eau par osmose à l'intérieur du GR. Ce dernier se gonfle puis

acquiert une forme sphérique (sphérocyte) avec un rapport S/V diminué (figure 8). La déstabilisation de la bicouche engendre également une perte du matériel membranaire sous forme de microvésicules entraînant une diminution de la surface du GR, et une déshydratation cellulaire dérèglement de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , ce qui contribue à une expulsion de 3 ions  $\text{Na}^+$  à l'extérieur contre 2 ions  $\text{K}^+$  transportés à l'intérieur afin de s'opposer au flux passif des cations. L'eau sort de la cellule provoquant ainsi une déshydratation. D'autre part le dérèglement du cotransport  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$  provoqué par le pH acide est aussi mise en cause d'autant plus que le pH dans les cordons splénique est acide. Cette déshydratation est non négligeable affecterait la déformabilité des GR [34-36].



**Figure 8** : Observation au microscope à balayage électronique des globules rouges d'un sujet sain (A) et d'un sujet atteint de sphérocytose héréditaire (B) [37].

### A. Rôle de la rate dans la SH :

Dans la rate, l'érythrocytose (15 à 150 minutes, contre 40 secondes à l'état normal) entraîne une augmentation du temps de contact avec les macrophages, qui vont phagocyter les GR les plus rigides, et la diminution du pH local provoque l'accentuation de la perte de membrane par les GR [36]. Du point de vue histologique, la rate possède une circulation dite «ouverte» dans laquelle le sang artériel se déverse dans des cordons spléniques, véritable labyrinthe constitué de passages très étroits formés par des cellules réticulées et tapissées de phagocytes.

Normalement, la plupart des cellules sanguines entrant dans ce labyrinthe vont le traverser, cependant en utilisant des chemins assez directs. Dans des situations pathologiques, les cellules sont redirigées dans une portion plus profonde de ces cordons où le flux sanguin est plus faible. Les cellules vont alors stagner plusieurs minutes, voire plusieurs heures. Les cellules sanguines vont ensuite rejoindre la circulation veineuse en passant à travers des espaces situés entre les cellules endothéliales constituant les sinus veineux. Ces espaces sont souvent plus petits que les GR qui doivent donc être capables de se déformer pour passer. Les sphérocytes ayant perdu ses capacités de déformabilité sont particulièrement gênés à ce niveau et vont donc être séquestrés dans la rate [36,38].

Chez les patients présentant une SH, on distingue sur les frottis sanguins du sang périphérique deux populations de cellules : une population minoritaire de microsphérocytes de fragilité osmotique très grande et une population majoritaire dont la fragilité osmotique est à peine plus élevée que la normale. Certains auteurs ont d'ailleurs montré que cette population minoritaire provient de la rate. La rate semble en effet être un protagoniste actif dans la physiopathologie de la SH et non un filtre passif. En effet, après splénectomie, bien que la sphérocytose persiste, cette population hyperfragile disparaît. La rate semble donc augmenter le caractère

splénique des sphérocytes et donc leur fragilité. Par ailleurs, l'environnement existant dans les cordons spléniques ne crée pas des conditions métaboliques favorables à la survie des sphérocytes (pauvreté en glucose, milieu acide inhibant les enzymes glycolytiques). Enfin, il se produit un gonflement des cellules en raison d'une entrée de chlore et d'eau. Ainsi le sphérocyte détenu dans les cordons spléniques en raison d'une diminution de surface, va être soumis à l'érythrostasis dans un environnement métabolique défavorable [36,38].

#### B. Dynamique splénique :

Lors de leur stase dans les cordons spléniques, les sphérocytes sont modérément déplétés en ATP de façon irréversible, ce qui après de multiples passages spléniques, résultera en une séquestration et lyse cellulaire. Par ailleurs, les sphérocytes, et particulièrement la spectrine au niveau de sa liaison avec la protéine 4.1, sont très sensibles aux agents oxydants présents en grande quantité dans la rate. Le rôle des macrophages a également été suspecté dans la lyse des sphérocytes. En effet, certaines expériences ont démontré que les macrophages étaient capables de fixer les cellules exprimant les phosphatidylsérines à leur surface. Ces lipides, habituellement situés au niveau de la face interne de la bicouche lipidique, peuvent se retrouver au niveau de la face externe en cas d'exposition à des agents oxydants ou de déficit en spectrine [39].

#### C. Mécanisme compensateur de l'hémolyse :

Physiologiquement, l'érythropoïèse contre balance la disparition des GR âgés. Environ 1% des GR circulants sont détruits quotidiennement et remplacés par les réticulocytes. L'érythropoïétine (EPO) est le principal facteur de croissance responsable de la régulation de la production des GR. Le principal stimulus augmentant la synthèse d'EPO est l'hypoxie tissulaire. En induisant l'expression du gène EPO et donc la synthèse d'EPO, l'hypoxie entraîne une augmentation des taux

plasmatiques d'EPO. Dans la moelle osseuse, les précurseurs des érythroblastes (BFU-E et CFU-E) présentent des récepteurs spécifiques à l'EPO à leur surface. Quand l'EPO se lie à ses récepteurs, ces précurseurs prolifèrent et subissent une maturation en érythroblastes et enfin en réticulocytes. Les patients présentant une forme bénigne de la SH sont capables de maintenir une concentration en hémoglobine normale en dépit de l'hémolyse. Ceci s'explique par l'augmentation physiologique de la synthèse d'EPO et une réponse efficace de l'érythropoïèse. Cependant dans les formes modérées ou sévères de la maladie, une anémie s'installe impliquant une perturbation de ces mécanismes physiologiques malgré une surproduction d'EPO. Dans la SH, l'activation macrophagique pourrait être impliquée dans l'inhibition de la synthèse d'EPO et/ou de la réponse à l'EPO. Une autre explication possible de l'inhibition de la réponse à l'EPO pourrait impliquer les récepteurs à l'EPO qui pourraient être manquants ou présenter un signal de transduction affaibli. Les cytokines de l'inflammation pourraient aussi être impliquées.

Rocha et Coll, ont cherché un lien entre les taux d'EPO et le type d'anomalie membranaire impliquée. Ainsi ils supputent que dans les déficits en protéine bande 3, une inhibition de la synthèse d'EPO serait plutôt impliquée avec des taux d'EPO plus bas. Alors que dans les autres déficits, il s'agirait d'une inhibition de la réponse à l'EPO, avec des taux d'EPO plus élevés. Ces auteurs ont également montré que les taux d'EPO sont corrigés après splénectomie, alors que la numération des réticulocytes reste dans des valeurs hautes. La splénectomie, en réduisant la destruction des GR et, donc, l'activation macrophagique semble permettre, par la suite, une réponse appropriée à l'EPO [40].

### III. PATIENTS ET METHODES :

#### 1. Type et population :

Il s'agit d'une étude rétrospective et descriptive portant sur tous les enfants atteints de la SH, colligés au sein de l'unité d'hémo-oncologie, du service de pédiatrie, du CHU Hassan II de Fès.

#### 2. Lieu et période d'étude :

Cette étude a été menée au sein de l'unité d'hémo-oncologie, du service de pédiatrie, du CHU Hassan II de Fès, sur une période de 5 ans allant de Janvier 2011 à Janvier 2016.

#### 3. Critères d'inclusion et d'exclusion :

##### 3.1. Critères d'inclusion :

Tous les enfants âgés de moins de 16 ans au moment du diagnostic et dont le diagnostic de la SH a été confirmé par le test de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques.

##### 3.2. Critères d'exclusion :

Ils sont exclus dans cette étude les :

- Enfants diagnostiqués en dehors de notre période d'étude.
- Enfants suivis dans un autre centre, ayant séjourné chez nous uniquement pour la gestion d'une complication.
- Enfants n'ayant pas une confirmation de la SH.

## 4. Collecte des données :

### 4.1. Source de collecte des données :

Le recueil des données a été établi à partir :

- Des dossiers des patients sous forme papier et sous forme informatisée.
- Des fiches de prescriptions médicales.
- Des fiches de bilans.
- Nous avons revu les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques, les traitements reçus, la réponse clinique et biologique et l'évolution des patients. Les données sur l'évolution ont été recueillies jusqu'à la perte de suivi ou bien la fin de la période d'étude (Janvier 2016).

### 4.2. Fiche d'exploitation (annexe 1) :

Une fiche d'exploitation a été établie pour chaque patient comprenant le plan de travail. Nous nous sommes intéressés aux :

- Données générales concernant les patients, il s'agit de : l'identité, l'âge actuel et au moment du diagnostic, le sexe, l'origine et le niveau socio-économique.
- Les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques au moment du diagnostic.
- Le traitement instauré :
  1. Type : transfusions, acide folique, traitement martial, et splénectomie.
  2. Effets secondaires.
- L'évolution :
  1. Rémission clinique et biologique.
  2. Aggravation : augmentation du besoin transfusionnel, crises hémolytiques aiguës, lithiase biliaire...
  3. Complications : hypersplénisme, erythroblastopénie...

## 5. Classification :

La SH a été classée, selon Eber et al (1990), en formes asymptomatiques (taux d'Hb et de réticulocytes normaux pour l'âge), légères ( $11 \leq \text{Hb} \leq 15 \text{ g/dL}$  et  $3\% \leq \text{réticulocytes} \leq 6\%$ ), modérées ( $8 \leq \text{Hb} \leq 12 \text{ g/dL}$  et  $\text{réticulocytes} > 6\%$ ) et sévères ( $6 \leq \text{Hb} \leq 8 \text{ g/dL}$  et  $\text{réticulocytes} > 10\%$ ) [1]. Cette classification est modifiée récemment par Silverio Perrotta et al (2008) [4], qui ont proposé de classer la SH, en formes légères (taux d'Hb normal et  $\text{réticulocytes} < 6\%$ ), modérées ( $\text{Hb} > 8 \text{ g/dl}$  et  $\text{réticulocytes} > 6\%$ ), modérément sévères ( $6 \leq \text{Hb} \leq 8 \text{ g/dl}$  et  $\text{réticulocytes} > 10\%$ ) et sévères ( $\text{Hb} < 6 \text{ g/dl}$  et  $\text{réticulocytes} > 10\%$ ).

## 6. Suivi des patients :

Le rythme de consultation dépend de la sévérité de la maladie et de la symptomatologie clinique. L'hémogramme est indispensable pour tous les patients afin d'évaluer la tolérance de l'anémie. Un dosage de la ferritinémie de même que les sérologies de l'HVB, HVC et HIV sont demandées régulièrement chez les patients polytransfusés.

## 7. Analyse statistique :

Tous les paramètres ont été recueillis dans un tableau Excel (Microsoft office Excel 2007), permettant l'analyse statistique descriptive afin d'analyser les particularités épidémiologiques, cliniques, biologiques, thérapeutiques, et évolutives des patients porteurs de cette affection ainsi que les complications à court et à long terme.

## 8. Ethique :

Le recueil des données a été fait à partir des dossiers médicaux des patients. Un consentement oral pour l'inclusion des enfants de cette étude a été obtenu des parents ou tuteurs légaux. La confidentialité des données a été respectée tout au long de notre étude.



### Fiche d'exploitation

## Profil épidémiologique, biologique, thérapeutique et évolutif de la maladie de Minkowski Chauffard chez l'enfant (Expérience de l'unité d'hémo-oncologie du service de Pédiatrie CHU Hassan II-Fès)

Fiche numéro :

### I-Identité :

\*IP :  Date d'admission :

\*Nom/Prénom :

\*Age au diagnostic :  Date de naissance :

\*Age actuel :

\*Sexe : Masculin  Féminin

\*Origine : Urbain  Rural

\*Résidence :

\*Scolarité

\*Vaccination selon le PNI

\*Niveau Socio-économique : Bas  Moyen  Elevé

\*Couverture Sociale : RAMEP  CNOPS  CNSS  FAR  Payant  Autres

### II- Circonstances de découverte

-Pâleur cutanéomuqueuse  Ictère  Syndrome anémique  SMG

-Crise de déglobulisation  Ulcère de la jambe  Lithiase biliaire  Autres

-Enquête familiale  Fortuite

### III- ANTECEDENTS

#### 1-Personnels :

\*Médicaux :

-Ictère  Age d'apparition :

-Notion de : Photothérapie  D'exsanguino-transfusion

-Maladie de Gilbert : Oui  Non

-Notion incompatibilité materno-fœtale : Oui  Non

-Anémie  Age d'apparition :

-transfusions Oui  Non

Age de début : Délais entre les transfusions :

Nombre de transfusions :

-Pâleur  Hémolyse

\*Régime alimentaire : Equilibré  Moyen  Pauvre

-Ménarche .Cycle menstruel : Régulier  Irrégulier

\*Chirurgicaux :

-Opéré le Pour

2- Familiaux :

-Consanguinité  Degré

-Ictère  SMG  Chez qui :

-Hémopathie

-Cas similaire dans la famille

-Splénectomie : Oui  Chez qui Non

-Cholécystectomie : Oui  Chez qui Non

IV-Histoire de la maladie :

-Date d'apparition des symptômes :

-Délai entre le début de la symptomatologie et la consultation :

-Consultation auprès d'un : Médecin généraliste  Un pédiatre  Autre

-Les signes fonctionnels

\*Asthénie Oui  Non

\*Vertiges Oui  Non

\*Bourdonnement d'oreille Oui  Non

\*Céphalées Oui  Non

\*Fébricule Oui  Non

\*Douleurs abdominales Oui  Non

\*Distension abdominale Oui  Non

\*Baisse de rendement Oui  Non

\*Retard de croissance Oui  Non

\*Arrêt des règles  Métrorragies

. \*Autres  Lesquels :

Evolution des symptômes :

V-Examen clinique :

- Pds : ( DS). Taille : ( DS)

- FC FR TA T

-Etat général Bon  Assez bon  Mauvais

-Pâleur : Oui  Minime  Non

Modérée

Intense

-Ictère : Oui  Non

-Malformation cranio-faciale : Oui  type : Non

-Examen abdominal :

\* SMG : TDD. HMG : oui  FH : Non

\*Douleur hypochondre droit : Oui  Non

\*Autres :

-Examen cardio-vasculaire :

-Examen pleuro pulmonaire :

-Examen neurologique :

-Examen ostéo-articulaire :

-Examen cutanéomuqueux :

-Examen des phanères et des ongles

-Examen des aires ganglionnaires :

-Examen des OGE :

\* Stade pubertaire :

VI-Examens complémentaires :



-Ektacytométrie en gradient osmolaire :

-Cytométrie en flux :

-Etude moléculaire :

2/L'imagerie :

\*Radiographie thoracique :

\*Echographie abdomino-pelvienne :

\*TDM thoraco-abdominale

\*Autre :

VII-Prise en charge thérapeutique :

-Hospitalisation :                      Oui                       Non

\* Le Motif                                      Date d'admission

\*Le patient est transfusé : Oui                       Non

Age de début de la transfusion

Délai entre les transfusions

Nbr CG      Sang : compatible  phénotypé  Déleucocyté

Hb avant la transfusion

Hb après transfusion

-Supplémentassions en folate                      Oui                       Non

Posologie                                      Durée

-L'érythropoïétine recombinante    Oui                       Non

Nom du produit                      Voie                      Dose                      la durée

Taux réticulocyte / HB avant l'introduction de l'érythropoïétine

Taux de réticulocyte /HB après l'introduction de l'érythropoïétine

-Splénectomie Oui  Non

Indication Age d'intervention

Totale Partielle

\*Vaccination : Méningococcique  Pneumocoque  La grippe

Haemophilus influenzae b  Autres

Date de début

\* Antibioprophylaxie : Molécule Dose Durée

-Cholécystéctomie Oui  Non

Age de la cholécystectomie Indication

VIII-Evolution :

- Bonne
- Récidive  Délai .Raison
- Les Complications

1/Post transfusionnel Oui  Non

- Allergiques  Allo immunisation  Infections  Autres

2/-Complications liées à l'érythropoïétine : Oui  Non

3/- Erythroblastpénie auto immune

- Surcharge en fer

- Autres



9/-l'ulcère de la jambe :

\*Siège :

\*Unilatéral  Bilatéral Dououreux Indolore  Hémorragique

10/-Infarctus splénique :

11/- Foyers d'érythroïèse ectopiques tel que les tumeurs médiastinales et para vertébrales :

12/-Autres complications :

- Décès :

IX Dépistage :

Annexe 1 : Fiche d'exploitation.

## IV-RESULTATS

### 1. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE :

#### 1.1. Fréquence :

Durant la période d'étude allant du janvier 2011 au Janvier 2016, l'unité d'hémato oncologie pédiatrique du CHU Hassan II de Fès a colligé 18 nouveaux cas d'enfants atteints de la SH. La répartition des cas admis selon les années est inéquitable :

- Sept patients (soit 38,9% des cas) ont été admis en 2011 et en 2015.
- Aucun patient n'a été admis en 2012 et en 2013.
- Un seul patient (soit 5,6% des cas) a été admis en 2014.
- Trois patients (soit 16,6% des cas) ont été admis en 2016 (Tableau1).

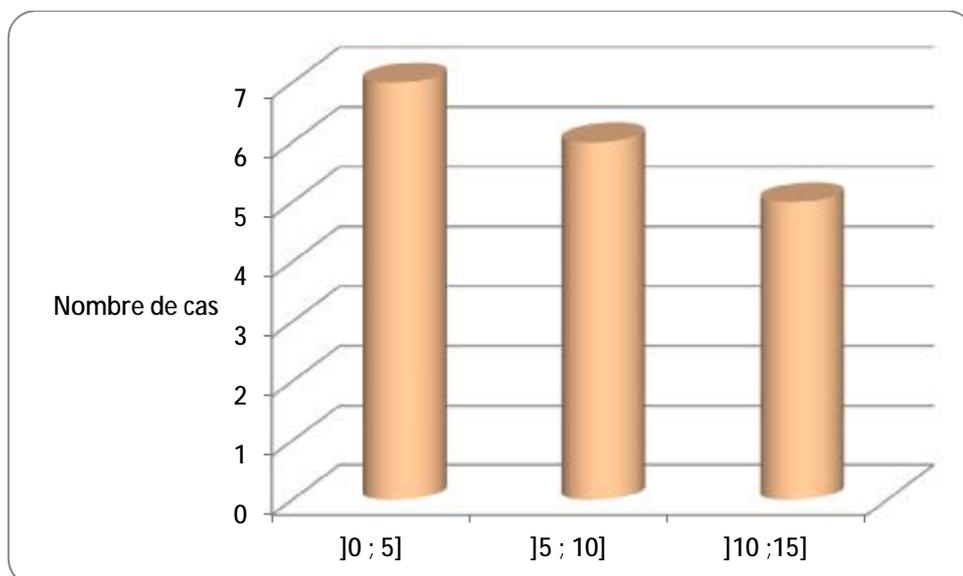
Tableau 1: Nombre des cas atteints de la SH par année d'étude.

Année d'étude	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Nombre de cas	7	0	0	1	7	3	18
Pourcentage	38,9%	0%	0%	5,6%	38,9%	16,6%	100%

#### 1.2. Age des patients au diagnostic (Figure1) :

L'âge des patients au moment du diagnostic a varié entre 2 mois et 13 ans avec une moyenne de 7 ans, une médiane de 6,7 ans et un écart type de 3,9 ans. En effet, 38,9% des patients ont été diagnostiqués à un âge inférieur ou égal à 5 ans. Toutefois, 62,1 % des cas ont été diagnostiqués à un âge supérieur à 5 ans.

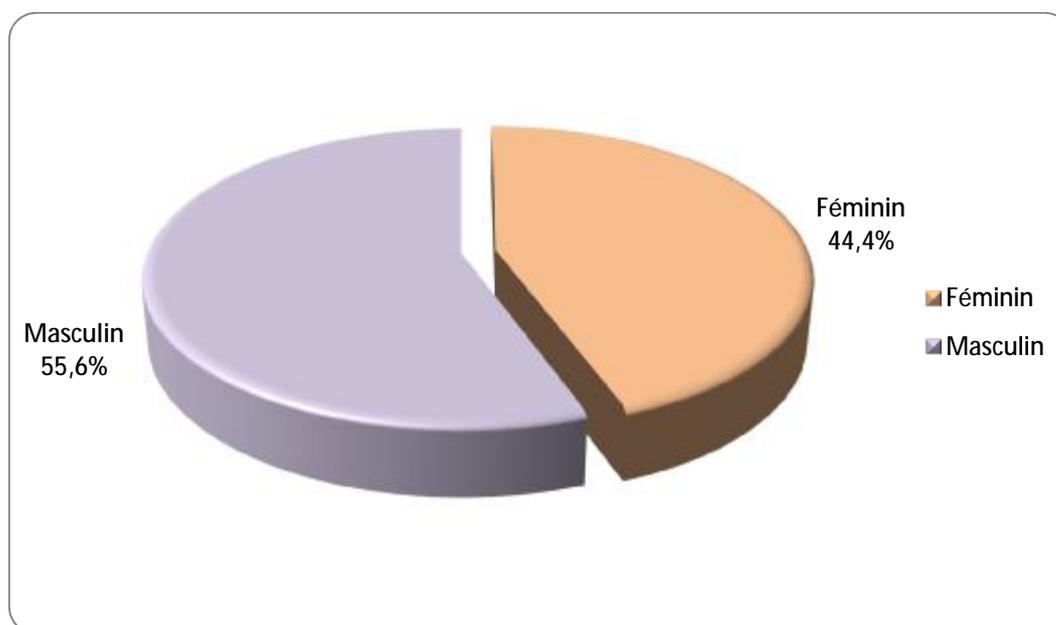
- Sept patients ont un âge entre 0 et 5 ans soit 38,9% des cas.
- Six patients ont un âge entre 6 et 10 ans soit 33,3% des cas.
- Cinq patients ont un âge supérieur à 10 ans soit 27,8% des cas.



**Figure 1** : Répartition des cas selon l'âge au diagnostic

### 1.3. Sexe des patients :

Les patients de notre série regroupent 10 garçons (55,6% des cas) et 8 filles (44,4% des cas). Le sexe ratio H/F est de 1,25 (Figure 2).



**Figure 2** : Répartition des cas selon le sexe

#### 1.4. Rapport âge au diagnostic-sexe (Figure 3):

Notre étude regroupe une proportion de garçons, qui est égale à 55,6% (10 cas), légèrement supérieure à celle des filles, qui est égale à 44,4% (8 cas). Pour les patients atteints de la SH et ayant un âge inférieur ou égal à 5 ans, la proportion des garçons ( $5/7=71,4\%$ ) est largement supérieure à celle des filles ( $2/7=28,6\%$ ). Pour ceux atteints par la SH et ayant un âge supérieur à 5 ans, la proportion des garçons ( $(3+2)/11=45,4\%$ ) est légèrement inférieure à celle des filles ( $((3+3)/11=54,6\%$ ).

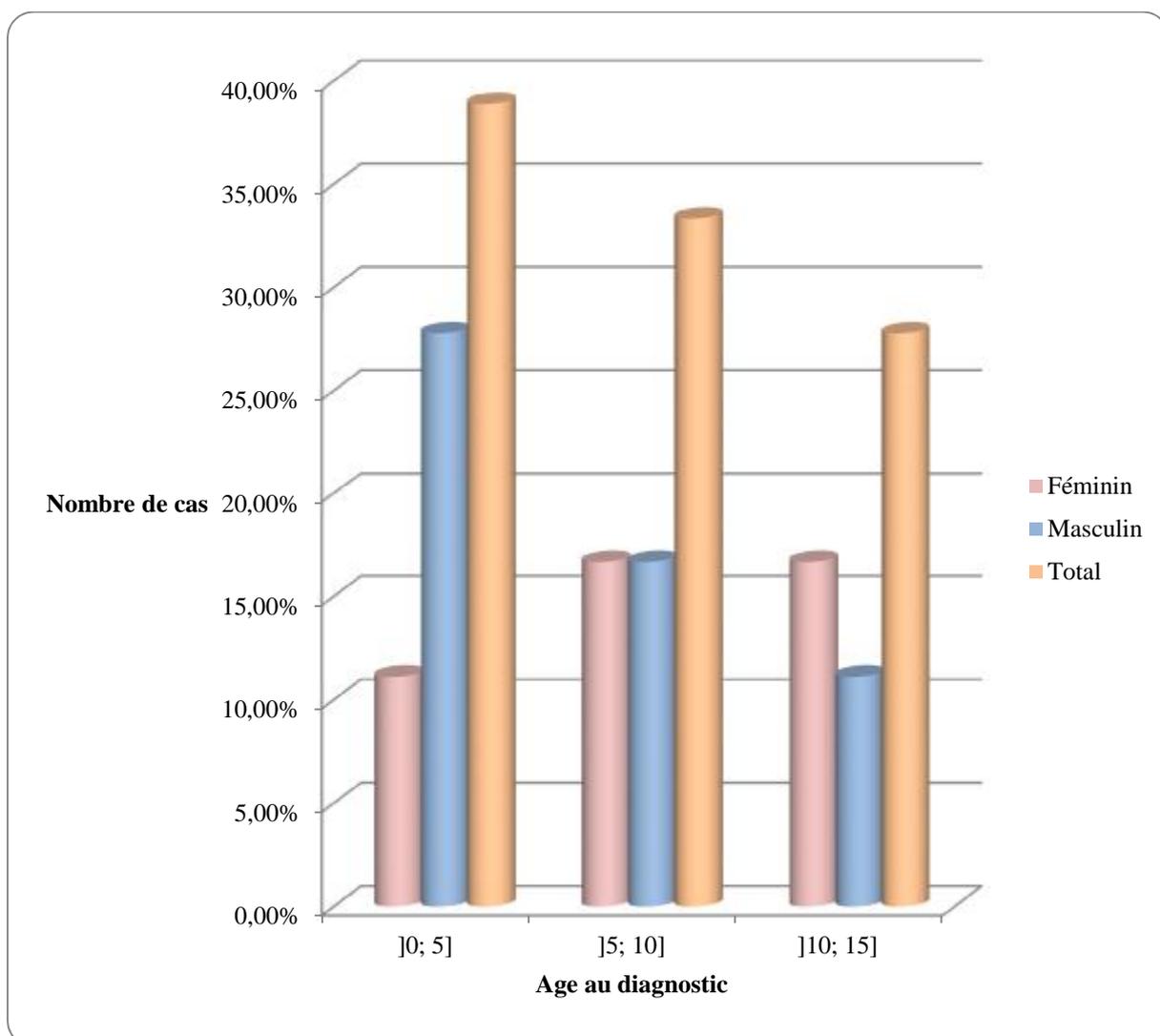


Figure 3 : Répartition des cas selon l'âge au diagnostic et le sexe.

### 1.5. Origine géographique des patients (Figure 4):

Dans notre série, il y a une prédominance des enfants issus du milieu urbain avec un pourcentage de 94,4% (17 cas), alors que seulement 5,6% (un cas) des cas sont issus du milieu rural. L'origine des patients est variable :

- Quatorze patients sont originaires de Fès, soit 77,7% des cas.
- Deux patients sont originaires de Khénifra, soit 11,1% des cas.
- Un patient est originaire de Meknès, soit 5,6% des cas.
- Un patient est originaire de Taounat, soit 5,6% des cas.

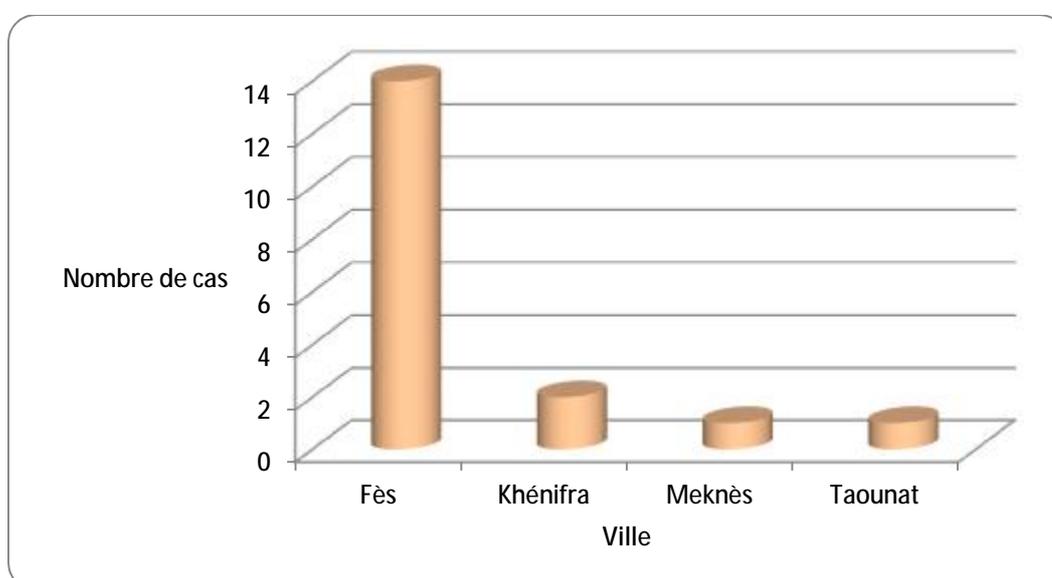


Figure 4: Répartition des cas selon leur origine géographique.

### 1.6. Niveau socio-économique et couverture sociale:

Dans notre série, 13 patients sont de bas niveau socio-économique, soit 72,2% des cas, et 5 patients sont de classe moyenne, soit 27,8% des cas (Figure 5). Onze patients, soit 61,1% des cas, ont une couverture sociale par le régime d'assistance médicale (RAMED) et 7 patients, soit 38,9% des cas, sont mutualistes, à savoir : 5 patients sont couverts par la caisse nationale des organismes de prévoyance sociale (CNOPS), un patient est couvert par la caisse nationale de sécurité sociale (CNSS) et un autre est couvert par les forces armées royales (FAR) (Figure 6).

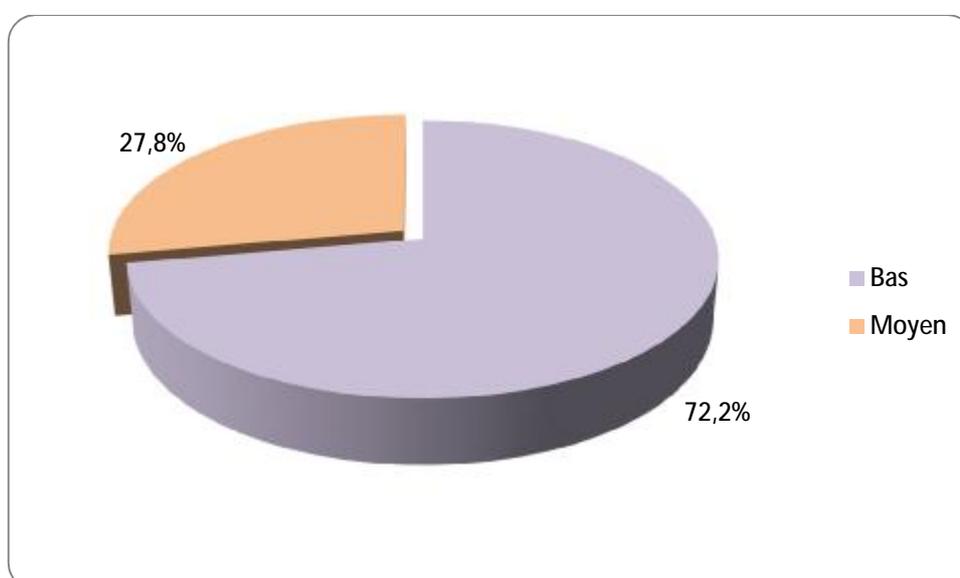


Figure 5 : Répartition des cas selon le niveau socio-économique.

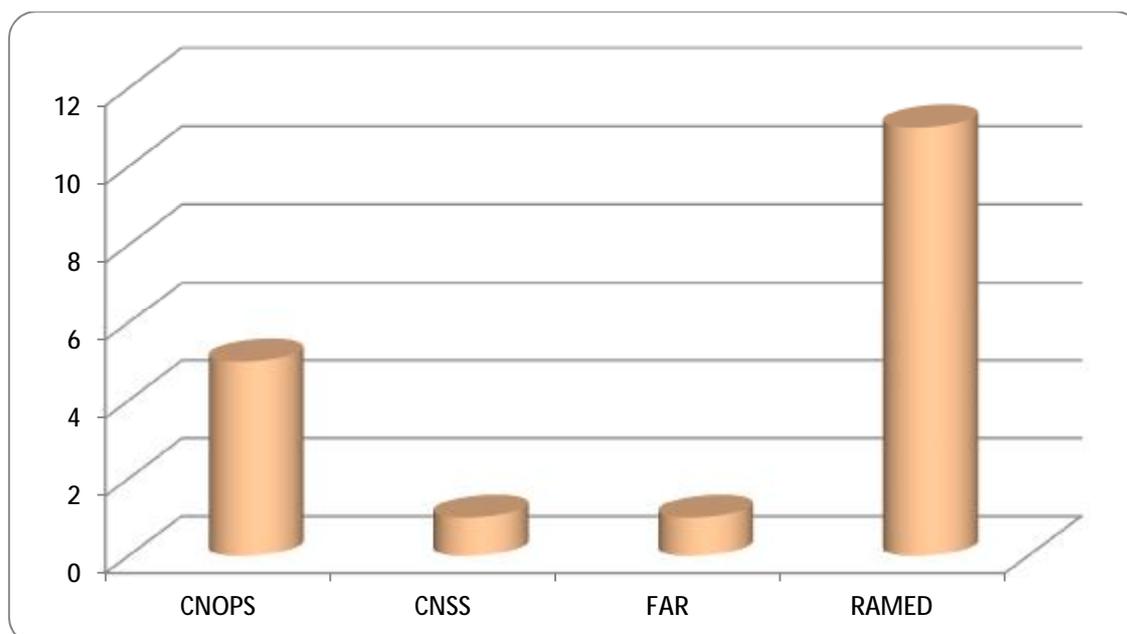


Figure 6 : Répartition des cas selon la couverture sociale.

## 2. ANTECEDENTS FAMILIAUX DES PATIENTS:

### 2.1. Consanguinité des patients (Figure7):

La notion de la consanguinité chez les parents a été retrouvée dans 8 cas, soit 44,4% (parmi les 18 cas). Sept cas, soit 87,5% (parmi les 8 cas), ont une consanguinité du 1er degré et un cas, soit 12,5% (parmi les 8 cas), a une consanguinité du 2ème degré.

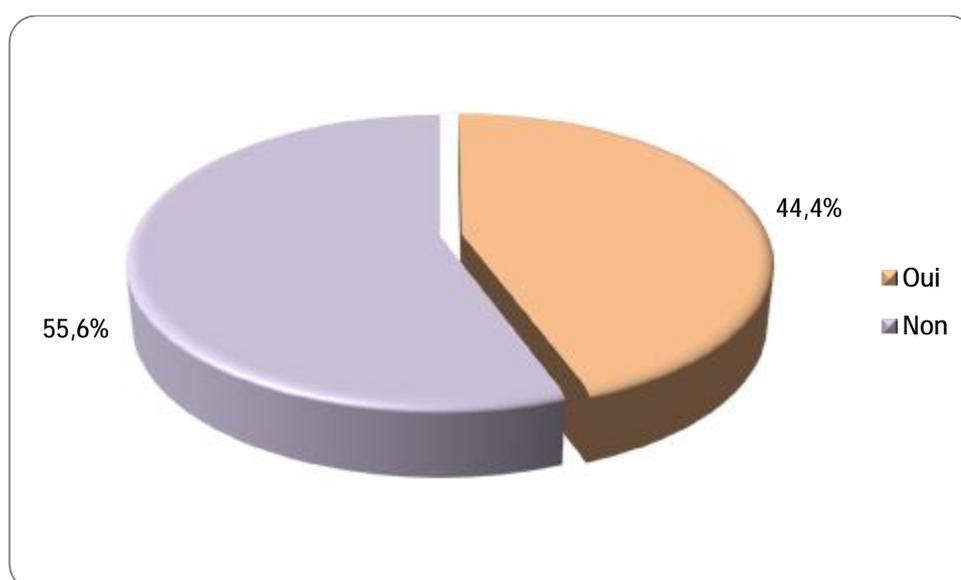


Figure 7 : Répartition des cas selon la consanguinité.

Tableau 2 : Répartition des cas ayant une consanguinité selon son degré.

Degré de consanguinité	Nombre de cas	Fréquence
1er degré	7	87,5%
2ème degré	1	12,5%
Total	8	100%

## 2.2. Antécédents familiaux des patients :

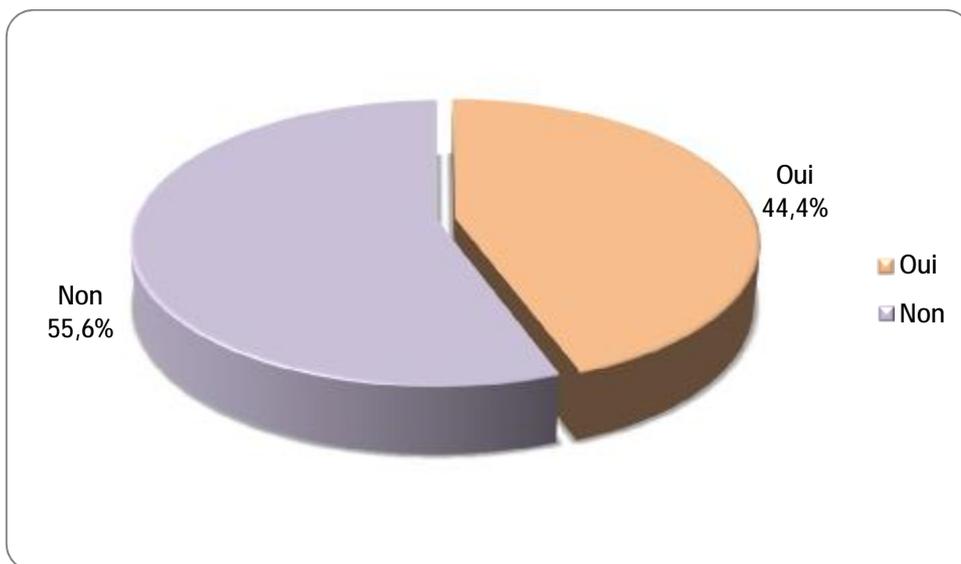
Parmi les 18 cas enregistrés dans notre étude, 8 cas, soit 44,4%, ont des antécédents familiaux, tandis que 10 cas, soit 55,6%, sont sporadiques (Figure 8). Parmi ces patients qui n'ont pas d'antécédents familiaux, il existe 3 cas, soit 30%, dont :

- Ø Un cousin maternel suivi pour pathologie hématologique indéterminée.
- Ø Une tante maternelle présente une lithiase vésiculaire non cholécystéctomisée.
- Ø Une mère et un oncle maternel suivis en médecine interne pour anémie sévère.

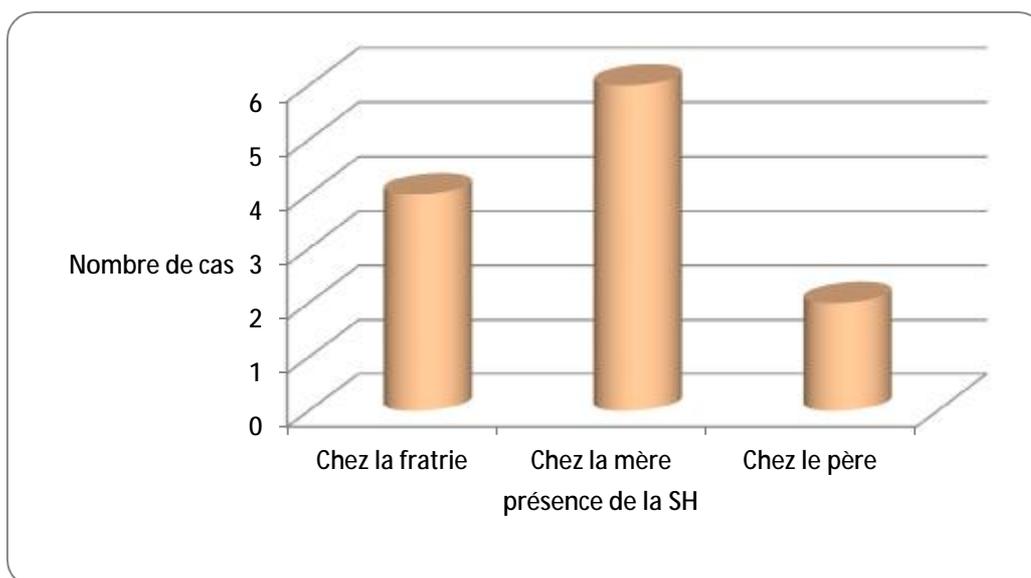
Au sein des 8 cas ayant un antécédent familial de la SH :

- Six cas, soit 75%, ont une mère atteinte de la SH. Deux mères, soit 33,3%, ont été splénectomisées.
- Quatre cas, soit 50%, ont des cas similaires chez la fratrie.
- Deux cas, soit 25%, ont un père atteint de la SH (Figure 9).

Il convient de rappeler que dans notre travail, l'âge moyen des patients ayant un antécédent familial (5,62 ans) est inférieur à l'âge moyen des cas n'ayant pas d'histoire familiale (8,18 ans). Pour vérifier ce résultat, nous avons fait appel au test d'indépendance de khi-deux. L'application de ce test montre que la valeur de p est égale à 0,453 et donc elle n'est pas significative.



**Figure 8** : Antécédents familiaux des patients.



**Figure 9** : Cas similaire dans la famille.

### 2.3. Antécédents personnels :

#### 2.3.1. Antécédent d'ictère néonatal :

Dans notre série, 7 cas, soit 38,9%, ont un antécédent d'ictère néonatal. Parmi eux, un seul cas, soit 14,3%, avait une hyperbiliruninémie à 173 mg/l traitée par la photothérapie. Alors que 11 cas, soit 61,1%, n'ont pas d'antécédents d'ictère néonatal (Figure 10).

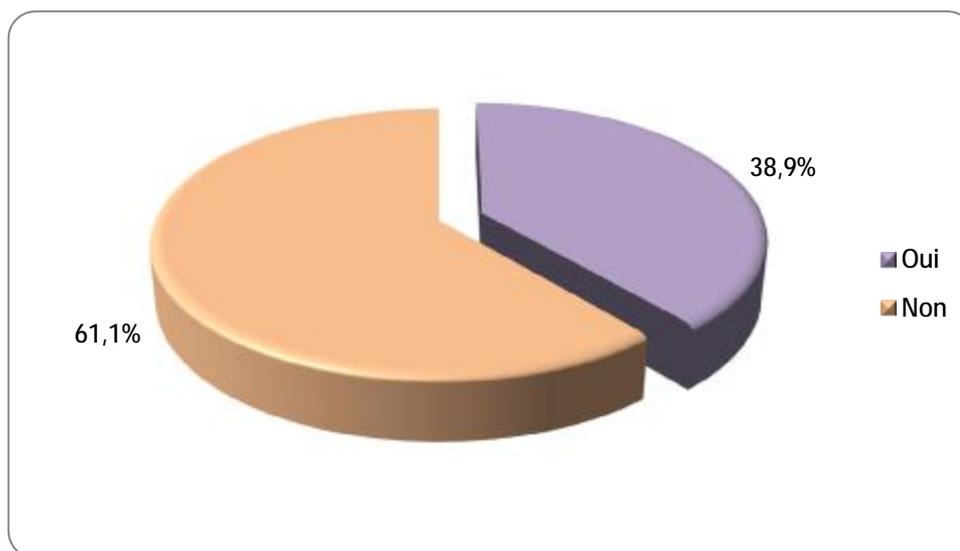
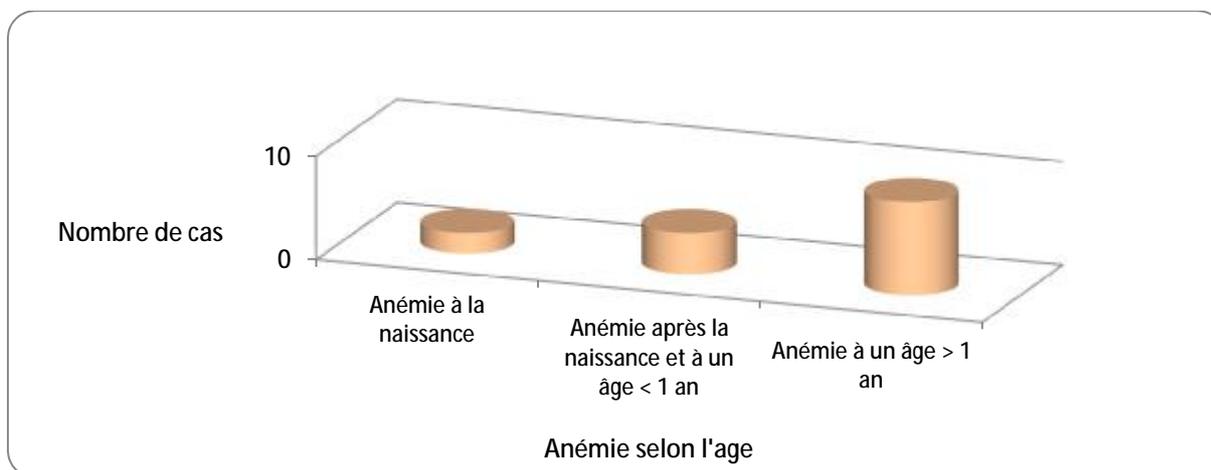


Figure 10 : Antécédent d'ictère néonatal.

#### 2.3.2. Antécédent d'anémie (Figure11) :

Dans notre étude, 15 patients, soit 83,3%, ont un antécédent d'anémie :

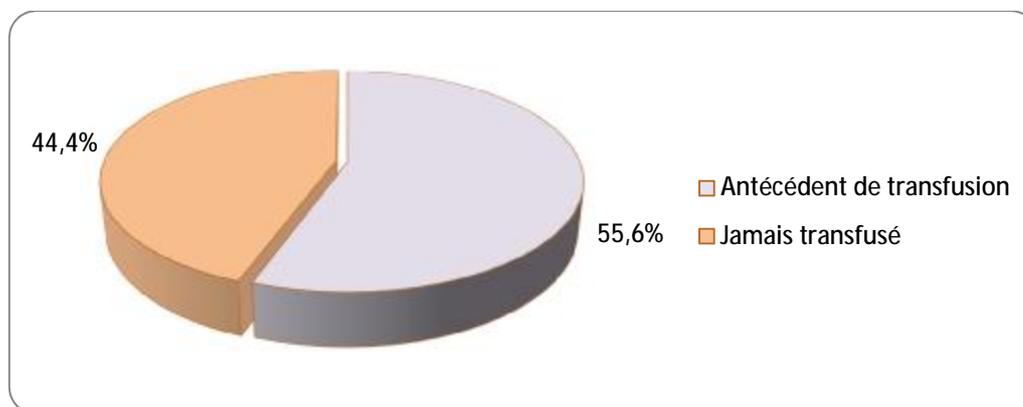
- Deux cas, soit 13,3%, ont une anémie à la naissance.
- Quatre cas, soit 26,7%, ont développé une anémie après la naissance et à un âge inférieur à un an.
- Neuf cas, soit 60%, ont développé une anémie à un âge supérieur à un an.



**Figure 11** : Répartition des cas ayant un antécédent d'anémie selon l'âge.

### 2.3.3. Antécédents de transfusions :

Dans notre série, 10 patients, soit 55,6% des cas, ont été transfusés avant l'admission à notre formation. Parmi eux, 8 patients, soit 80% des cas, ont reçu une seule transfusion, alors que 2 patients, soit 20% des cas, ont reçu plus de deux transfusions (Figure 12).



**Figure 12** : Répartition des cas selon les antécédents de transfusion.

### 3. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE (Figure 13) :

La maladie a été découverte suite à : une pâleur cutanéomuqueuse dans 7 cas, soit 38,9% des cas, un ictère cutanéomuqueux dans 5 cas, soit 27,8% des cas, un syndrome anémique dans 4 cas, soit 22,2% des cas, un dépistage dans un cas, soit 5,6% des cas, et suite à une lithiase biliaire dans un seul cas, soit 5,6% des cas. Deux patients ont été référés de l'hôpital Ibn Al Khatib : un patient, soit 5,6% des cas, pour une suspicion de drépanocytose et l'autre cas, soit 5,6% des cas, pour suspicion d'une thalassémie.

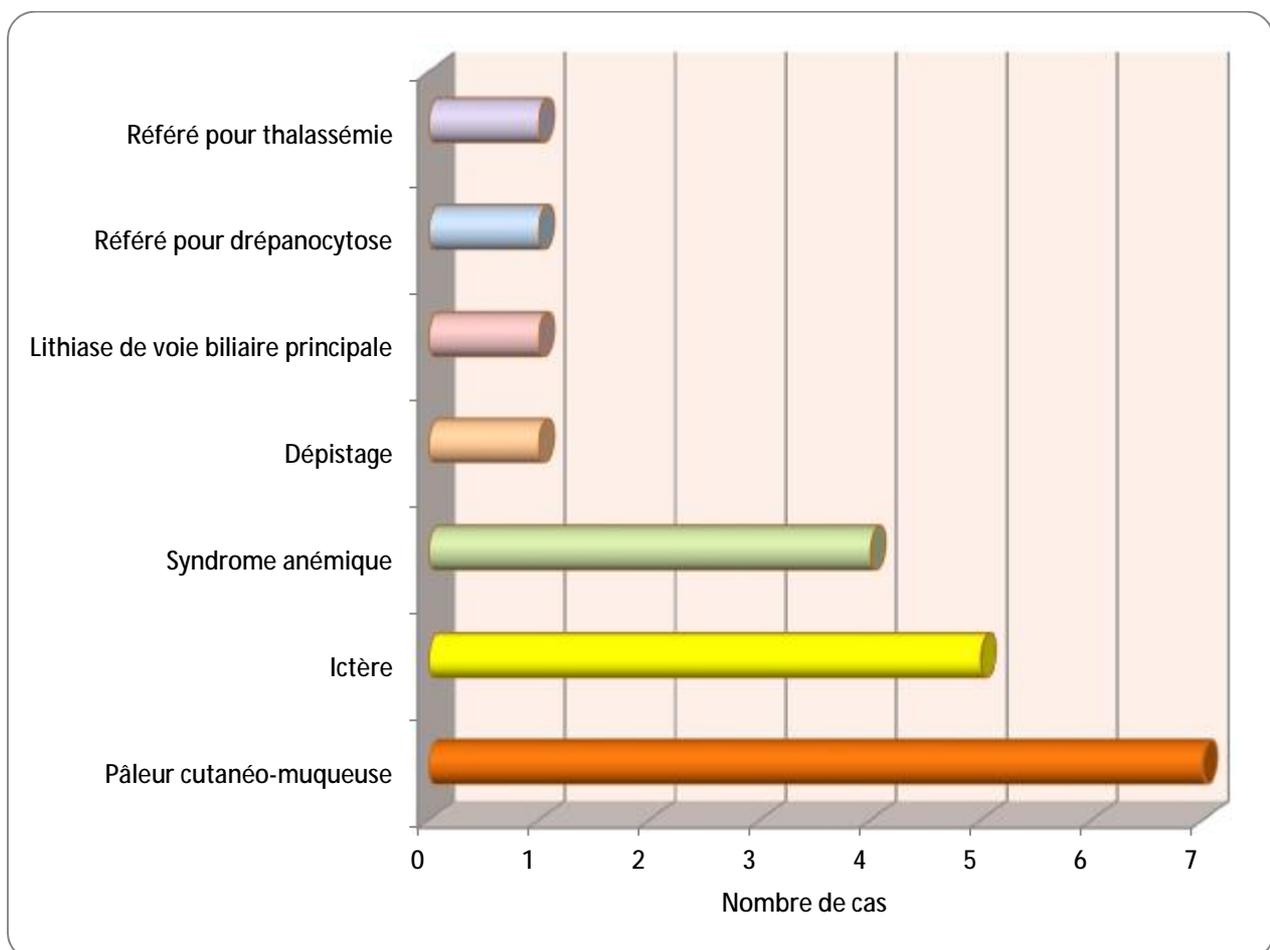


Figure 13 : Circonstances de découverte de la SH chez les patients.

#### 4. MANIFESTATIONS CLINIQUES :

##### 4.1. Durée d'évolution avant la consultation en hématologie pédiatrique:

Le délai entre l'apparition des premières manifestations cliniques en rapport avec la SH et l'admission dans notre formation a varié entre 4 jours et 11 ans avec une médiane de 1 an. 50% des patients ont consulté au cours de la première année d'évolution, 11,1% des cas après une durée d'évolution entre 1 et 3 ans, 16,7% des cas après une durée d'évolution entre 3 et 6 ans, 16,7% des cas après une durée d'évolution entre 6 et 9 ans et 5,5% des cas après une durée d'évolution entre 9 et 12 ans (Tableau 3).

Tableau 3: Répartition des malades selon le délai entre le début des symptômes et l'admission.

Délai avant consultation (en années)	Nombre de cas	Fréquence
]0-1]	9	50%
]1-3]	2	11,1%
]3-6]	3	16,7%
]6-9]	3	16,7%
]9-12]	1	5,5%
Total	18	100%

#### 4.2. Données de l'examen cliniques :

##### 4.2.1. Pâleur cutanéomuqueuse :

Dans notre étude, la pâleur cutanéomuqueuse est présente chez 16 patients, soit 88,9% des cas, avec une intensité variable. En effet, 11 patients, soit 68,8% des cas, ont une pâleur minimale et 5 patients, soit 31,2% des cas, ont une pâleur modérée (Figure 14).

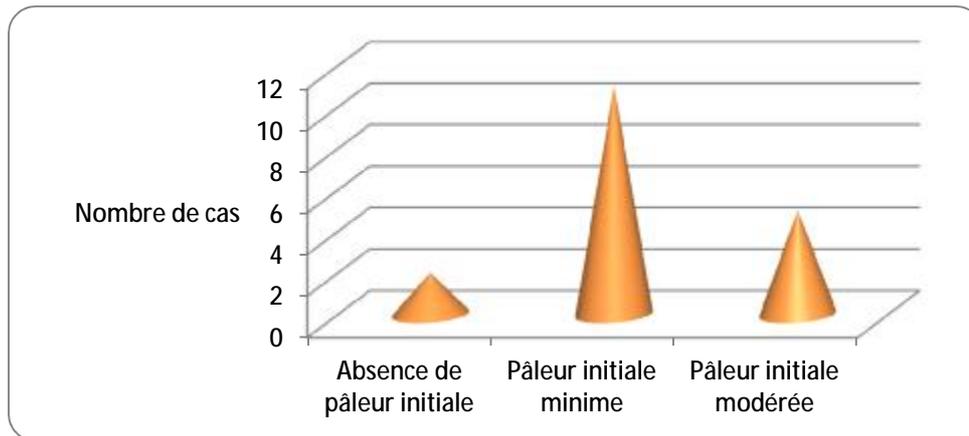


Figure14 : Répartition des cas selon l'intensité de la pâleur cutanéomuqueuse.

##### 4.2.2. Ictère cutanéomuqueux:

L'ictère est présent chez 7 patients, soit 38,9% des cas, tandis que 11 patients, soit 61,1% des cas, n'ont pas ce symptôme clinique à la première consultation (Figure 15).

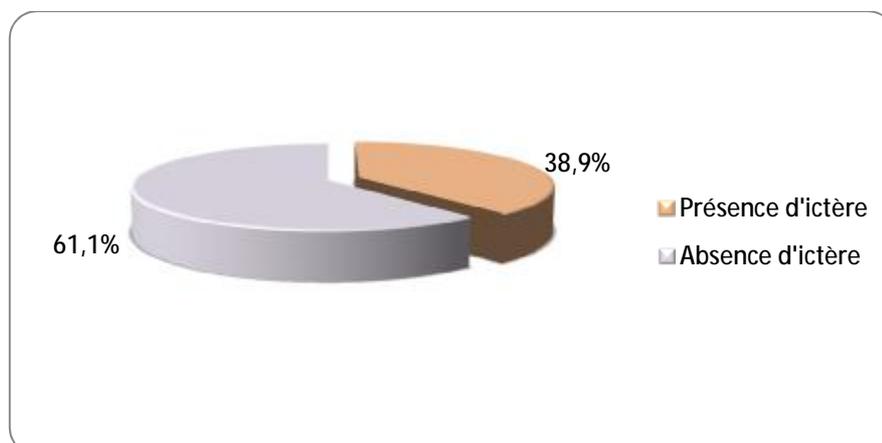


Figure 15 : Répartition des cas selon l'ictère cutanéomuqueux.

4.2.3. Splénomégalie (Tableau 4):

A l'examen clinique, 12 cas, soit 66,7%, ont une splénomégalie allant de 1 à 6 travées de doigt (TDD) :

- Un patient a une splénomégalie de 1 TDD, soit 5,5% des cas.
- Deux patients ont une splénomégalie de 2 TDD, soit 11,1% des cas.
- Quatre patients ont une splénomégalie de 3 TDD, soit 22,2% des cas.
- Deux patients ont une splénomégalie de 4 TDD, soit 11,1% des cas.
- Deux patients ont une splénomégalie de 5 TTD, soit 11,1% des cas.
- Un patient a une splénomégalie de 6 TDD, soit 5,5% des cas.

Tableau 4 : Répartition des cas selon la taille de la splénomégalie.

SMG initiale	Nombre de cas	Fréquence
1 TDD	1	5,6%
2 TDD	2	11,1%
3 TDD	4	22,2%
4 TDD	2	11,1%
5 TDD	2	11,1%
6 TDD	1	5,6%
Absence de splénomégalie	6	33,3%
Total	18	100%

4.3.3. Dymorphie crânio-faciale :

Un seul patient, soit 5,6% des cas, a une dymorphie crânio-faciale : front bombant, racine du nez aplatie et hypertélorisme.

4.3.5. Retard de croissance et pubertaire :

Dans notre série, 2 patients, soit 11,1% des cas, ont un retard de croissance avec un poids et une taille allant de - 2 DS à -3 DS. Il convient de signaler qu'aucun patient n'a présenté un retard pubertaire.

## 5. DONNEES PARACLINIQUES:

### 5.1. Hémogramme :

#### 5.1.1. Hémoglobine (Hb):

Dans notre étude, le taux moyen de l'Hb est de 8,5 g/dl avec des valeurs extrêmes entre 4,8 g/dl et 12 g/dl et un écart-type de 2,1 g/dl.

- Ø Onze patients ont un taux d'hémoglobine entre 8 et 12 g/dl, soit 65% des cas.
- Ø Trois patients ont un taux d'hémoglobine qui varie entre 6 et 8 g/dl, soit 18% des cas.
- Ø Trois patients ont un taux d'hémoglobine inférieur à 6 g/dl, soit 18% des cas (Figure 18).

Quatorze patients, soit 82,4% des cas (14/17), ont présenté une anémie au diagnostic.

Trois cas avaient un taux d'Hb normal.

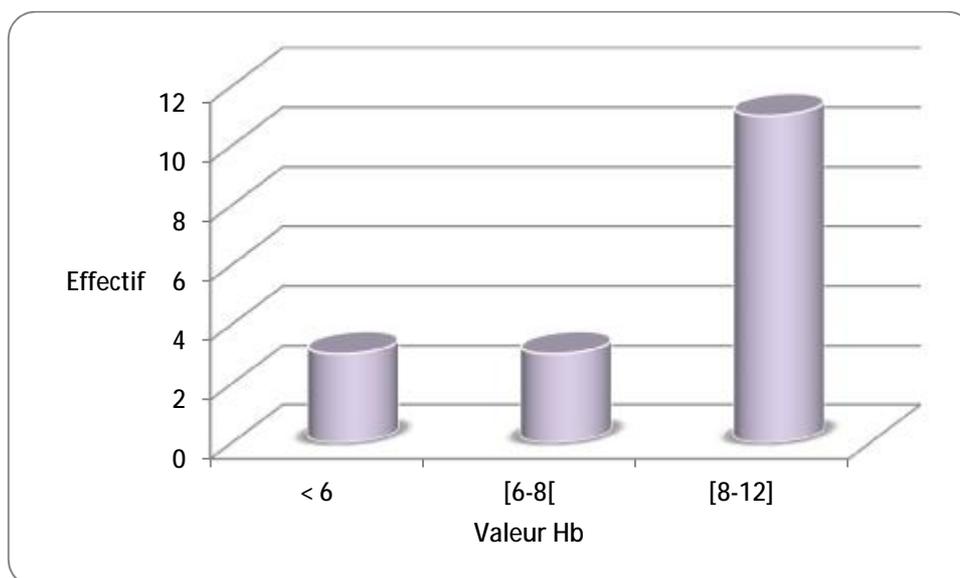


Figure 16 : Répartition des cas selon le taux de l'hémoglobine.

### 5.1.2. Volume globulaire moyen (VGM) :

Les valeurs du VGM ont varié entre 68 et 108  $\mu^3$ , avec une moyenne de 81,2  $\mu^3$  et un écart type de 10,9  $\mu^3$ .

Dans notre série, l'anémie est normocytaire chez 7 patients, soit 50% des cas, microcytaire chez 5 patients, soit 35,7% des cas, et macrocytaire chez 2 patients, soit 14,3%, des cas.

### 5.1.3. Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) :

Les valeurs du CCMH ont varié entre 27,8 et 38,5% avec une moyenne de 33,3%. Parmi les 14 cas anémiques, 10 patients, soit 71,4% des cas, ont une anémie normochrome, alors que 4 patients, soit 28,6%, a une anémie hypochrome.

### 5.1.4. Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) :

Les taux de la TCMH varient de 19,7 à 30,8 pg avec une moyenne égale à 25,7 pg et un écart type de 2,8 pg. La médiane est de 26 pg. Parmi les 14 patients anémiques, 8 patients, soit 57,1% des cas, ont une anémie hypochrome, alors que 6 patients, soit 42,8% des cas, ont une anémie normochrome.

### 5.1.5. Réticulocytes :

Dans notre série, 14 patients ont bénéficié d'un dosage de réticulocytes, soit 77,8% des cas. Le taux de réticulocytes a varié entre 11000/mm<sup>3</sup> et 494560/mm<sup>3</sup>, avec une moyenne de 210896 /mm<sup>3</sup> et un écart-type de 143204 /mm<sup>3</sup>.

En pourcentage, ce taux a oscillé de 0,3% à 18,3%, avec une moyenne de 7,8% et un écart type de 6,1%.

Ø Six patients ont un taux de réticulocytes inférieur à 6%, soit 42,9% des cas.

Ø Trois patients ont un taux de réticulocytes entre 6 et 10%, soit 21,4% des cas.

Ø Cinq patients ont un taux de réticulocytes supérieur à 10%, soit 35,7% des cas.

Parmi les 14 cas anémiques, 11 patients ont bénéficié d'un dosage de réticulocytes, 9 patients ont une anémie régénérative, soit 81,8% des cas, alors que deux patients ont une anémie arégénérative, soit 18,2% des cas.

#### 5.1.6. Taux de globules blancs :

Dans notre série, la valeur moyennes des globules blancs (GB) est de 10132,3/mm<sup>3</sup> avec des extrêmes de 4850 et 24400/mm<sup>3</sup>. Le taux des GB est normal chez 15 patients, soit 88,2% des cas. Une hyperleucocytose a été notée chez deux patients, soit 11,8% des cas.

\* Polynucléaires neutrophiles (PN) : Le taux de polynucléaires neutrophiles varie de 2070 à 7847/mm<sup>3</sup>, avec une moyenne de 4546,6/mm<sup>3</sup> et un écart type de 1930,4/mm<sup>3</sup>.

\* Lymphocytes : Le taux de lymphocytes varie de 2090 à 9050/mm<sup>3</sup>, avec une moyenne égale à 4140,2/mm<sup>3</sup> et un écart égal à 2216,8/mm<sup>3</sup>.

#### 5.1.7. Taux de plaquettes :

Dans notre série, le taux de plaquettes a varié de 111000/mm<sup>3</sup> à 505000/mm<sup>3</sup>, avec une moyenne de 291864,7/mm<sup>3</sup> et un écart type de 114694,9/mm<sup>3</sup>. Trois patients ont une thrombocytose, soit 17,6% des cas (3/17), et un seul patient a une thrombopénie, soit 5,9 % des cas.

## 5.2. Frottis sanguins (Figure 19) :

Dans notre série, 13 patients ont bénéficié d'un frottis sanguin. Cet examen a objectivé une présence de sphérocytoses dans 8 cas, soit 61,5% des cas, une microcytose hypochrome dans 4 cas, soit 30,8% des cas, une microcytose hypochrome dans 4 cas, soit 30,8% des cas, une anisocytose dans 3 cas, soit 23,1% des cas, une anisochromie dans 2 cas, soit 15,4% des cas, et une poikilocytose a été notée dans deux cas, soit 15,4% des cas.

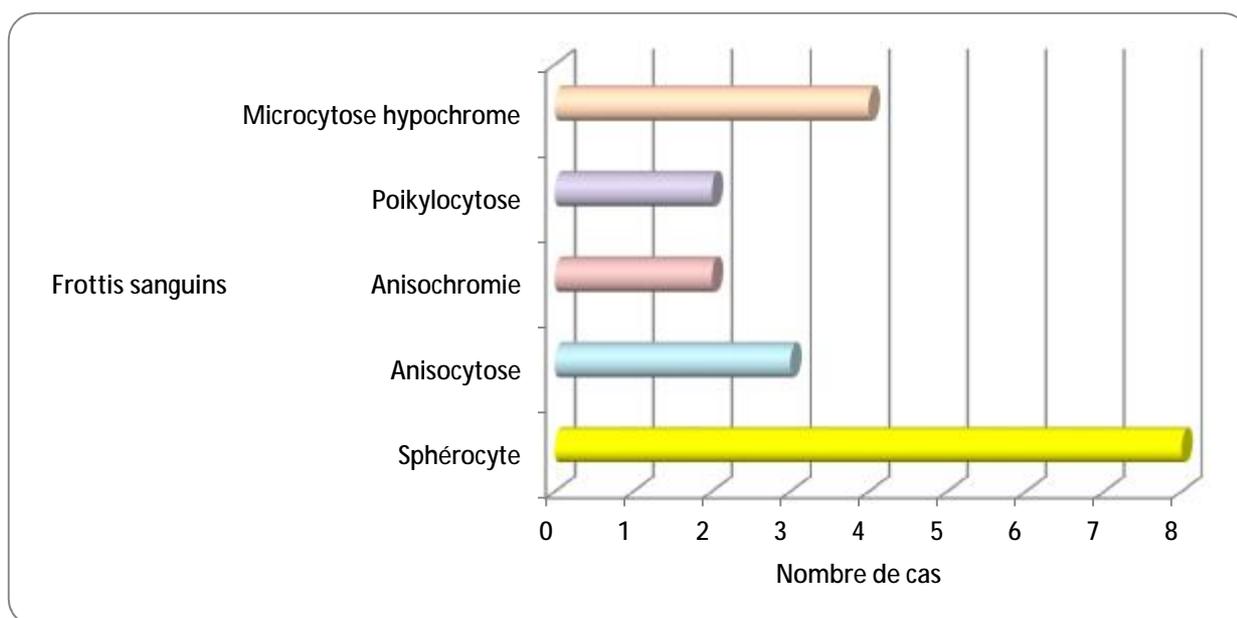


Figure 17 : Répartition des cas selon les données du frottis sanguins.

## 5.3. Test de résistance globulaire :

Le test de résistance globulaire a confirmé le diagnostic de la SH chez tous les patients (100%).

## 5.4. Bilan d'hémolyse :

### 5.4.1. Bilirubine totale :

Dans notre série, la bilirubine totale a été dosée chez 11 patients, soit 61,1% des cas. Le taux de la bilirubine varie de 14,6 à 250 mg/l avec une valeur moyenne égale à 68,8 mg/l. La totalité des patients ont une hyperbilirubinémie supérieure à 12 mg/l. Dans 72,7% des cas, la bilirubine est à prédominance libre.

#### 5.4.2. Bilirubine libre (indirecte ou non conjuguée):

Dans notre série, la bilirubine libre a été dosée chez 11 patients, soit 61,1% des cas. La valeur moyenne est de 43,9 mg/l, avec des extrêmes de 7 et 150 mg/l. Sept patients, soit 63,6% des cas, ont une hyperbilirubinémie indirecte supérieure ou égale à 10 mg/l.

#### 5.4.3. Bilirubine conjuguée (Directe)

Dans notre étude, 11 patients soit 61,1% ont bénéficié d'un dosage de la bilirubine conjuguée, avec une valeur moyenne de 24,8 mg/l et des valeurs extrêmes de 2,7 et 24,8 mg/l. Dix patients, soit 90,9% des cas, ont une hyperbilirubinémie conjuguée supérieure à 5 mg/l.

#### 5.4.4. Haptoglobine :

Dans notre travail, 3 cas ont bénéficié d'un dosage de l'haptoglobine. Ce dernier oscillait de 0,1 à 0,5 g/l, avec une moyenne égale à 0,3 g/l. Parmi ces cas, 2 patients, soit 66,7% des cas, ont une haptoglobine effondrée, tandis qu'un seul patient, soit 33,3% des cas, a une haptoglobine normale.

#### 5.4.5. Lactate déshydrogénase (LDH) :

Dans notre série, 5 patients ont bénéficié d'un dosage de la LDH. Cette dernière varie de 335 à 600 UI/l, avec une moyenne égale à 469 UI/l. Trois patients, soit 60%, ont un taux de LDH élevé, tandis que 2 patients, soit 40%, ont une LDH normale.

#### 5.4.6. Test de Coombs :

Onze patients de notre série, soit 61,1% des cas, ont bénéficié d'un test de Coombs revenu négatif dans tous les cas.

## 5.5. Autres examens biologiques :

### 5.5.1. Ferritinémie :

Dans notre série, 11 patients ont bénéficié d'un dosage de la ferritinémie, soit 52,9% des cas. Le taux de la ferritinémie a varié entre 79,9 ng/ml et 3500 ng/ml, avec une moyenne de 558,9 ng/ml. Six patients, soit 54,5% des cas, ont un taux de ferritine élevée, tandis que 5 patients, soit 45,5%, ont une ferritinémie normale.

### 5.5.2. Fer sérique :

Dans notre série, 6 patients, soit 33,3% des cas, ont bénéficié d'un dosage du fer sérique. Il a varié de 0,1 à 1,5 mg/l, avec une moyenne de 0,6 mg/l. Deux patients, soit 33,3%, ont un fer sérique bas et 4 patients, soit 66,7%, ont un fer sérique normal.

### 5.5.3. Groupage ABO-Rhésus :

Dans notre échantillon, 11 patients ont fait un groupage ABO-Rhésus, soit 61,1% des cas.

- Quatre patients sont A Rh-, soit 36,4% des cas.
- Trois patients sont O Rh+, soit 27,3% des cas.
- Trois patients sont A Rh+, soit 27,3% des cas.
- Un patient est B Rh+, soit 9,1% des cas.

### 5.5.4. Sérologies virales :

Dans notre série, 15 patients, soit 83,3%, ont bénéficiés des sérologies virales (HVB, HVC, VIH) qui sont revenues négatives. Ces sérologies virales sont renouvelées tous les 6 mois surtout pour les patients polytransfusés.

#### 5.5.5. Bilans biologiques de suivi :

##### ▼ Les transaminases :

Dans notre travail, 10 patients, soit 55,6%, ont bénéficié d'un bilan hépatique : les SGOT ont varié de 19 UI/l à 836 UI/l avec une moyenne de 157 UI/l, et les SGPT ont varié de 9 à 868 UI/L avec une moyenne égale à 182 UI/L. Parmi ces cas, 5 patients, soit 50%, ont une cytolyse hépatique.

##### ▼ La fonction rénale :

Dans notre série, 8 patients, soit 44,4%, ont bénéficié d'un dosage de la fonction rénale qui est revenue normale chez tous les patients : la créatinine a varié entre 3,3 mg/l et 7 mg/l avec une moyenne de 5,25 mg/l et l'urée a varié de 3,3 mg/l à 7 mg/l avec une moyenne de 5,25 mg/l.

#### 5.5.6. Bilan biologique étiologique (Tableau 5):

Dans notre étude, l'examen de l'électrophorèse d'Hb est le plus réalisé, avec une fréquence égale à 44,4%. Il est suivi du dosage de glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD), avec une fréquence égale à 22,2%. Les examens d'Ac anti muscle lisse, d'examen cytobactériologique des urines (ECBU), d'électrophorèse des protéines et de Phosphatases alcalalines arrivent tous au troisième rang avec une même fréquence égale à 11,1%. Les autres examens restants, à savoir : anticorps anti microsomes du foie et de rein (Ac anti LKM), Ac anti mitochondrie, Gamma glutamyl transférase (GGT), Pyruvate kinase érythrocytaire et Thyroid stimulating hormone (TSH), ont été réalisés une seule fois, avec une même fréquence égale à 5,6%.

D'après l'analyse des différents bilans étiologiques : la SH a été isolée pour tous les patients de notre échantillon (Absence d'un trait thalassémique, drépanocytaire, déficit en G6PD et un déficit en pyruvate kinase).

Les PAL ont été élevées chez deux patients, les AC anti-muscles lisses ont été positifs chez un seul patient et la GGT a été élevée dans un seul cas.

Tableau 5 : Répartition des cas selon les autres examens.

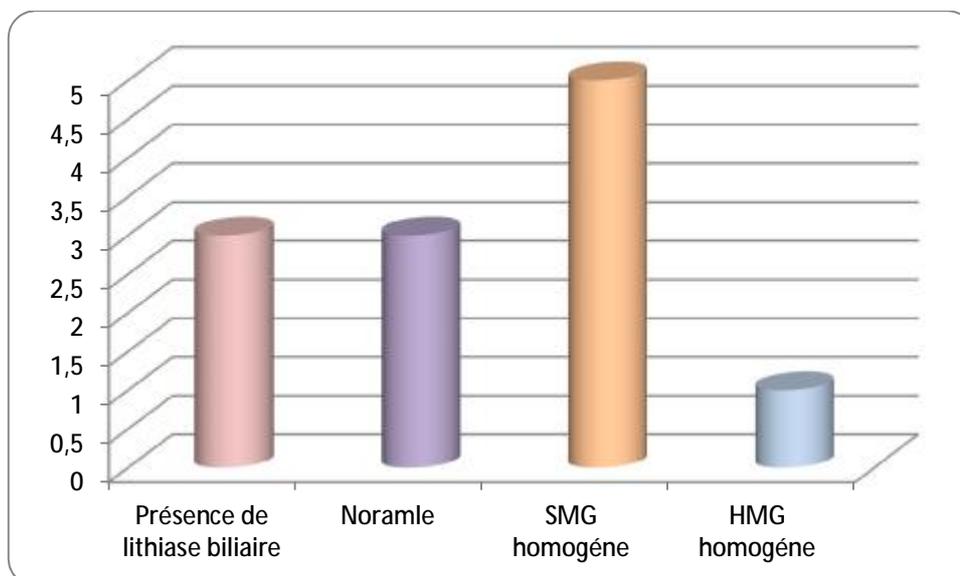
Autres examens	Nombre de cas	Fréquence
Ac anti LKM	1	5,6%
Ac anti mitochondrie	1	5,6%
Ac anti muscle lisse	2	11,1%
ECBU	2	11,1%
Electrophorèse des protéines	2	11,1%
Electrophorèse hb	8	44,4%
G6PD	4	22,2%
Gamma glutamyl transférase	1	5,6%
PAL	2	11,1%
Pyruvate kinase érythrocytaire	1	5,6%
TSH	1	5,6%

## 5.6. Imagerie :

### 5.6.1. Echographie abdomino-pelvienne :

Dans notre échantillon, 9 patients, soit 50% des cas, ont réalisé une échographie abdomino-pelvienne :

- Cinq patients ont une splénomégalie homogène, soit 55,6% des cas.
- Trois patients ont une lithiase biliaire, soit 33,3% des cas.
- Trois patients ont une échographie normale, soit 33,3% des cas.
- Un patient a une hépatomégalie, soit 11,1% des cas (Figure 20).



**Figure 18 :** Répartition des cas selon le résultat de l'échographie abdomino-pelvienne

#### 5.6.2. Bili IRM :

Un seul cas a bénéficié d'une bili-IRM objectivant une vésicule biliaire lithiasique à paroi fine et régulière associée à une présence de calcul de 15 mm de diamètre dans le canal cystique et une dilatation des voies biliaires intra-hépatiques

## 6. Classification de la sphérocytose héréditaire:

Dans notre série, 4 patients, soit 22,2% des cas, ont présenté une forme légère de la maladie avec une prédominance masculine (3 garçon/ 1 fille), 8 patients, soit 44,4% des cas ont présenté une forme modérée de la maladie avec une prédominance féminine (5 filles/ 3 garçons), 3 patients, soit 16,7% des cas, ont présenté une forme modérément sévère de la maladie avec une prédominance masculine (3garçons/ 0 filles), et 3 patients, soit 16,7% des cas, ont présenté une forme sévère de la maladie avec une prédominance féminine (2 filles/garçon).

Tableau 6 : Répartition des patients de notre étude selon la classification de Silverio Perrotta et al.

	Formes légères	Formes modérées	Formes modérément sévères	Formes sévères
Nombre des cas	4 cas (22,2%)	8 cas (44,4%)	3 cas (16,7%)	3 cas (16,7%)
Sexe	3 garçons/ 1 fille	3 garçons/ 5 filles	3 garçons	1 garçon/ 2 filles
Transfusion	Aucun	3/8 (37,5%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)
Splénectomie	Aucun	Aucun	Aucun	1/3 (33,3%)

## 7. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE :

### 7.1. Transfusion :

Dans notre étude, 9 patients, soit 50% des cas, ont bénéficié d'une transfusion par des culots globulaires phénotypés, compatibles et filtrés (Figure 21). Le seuil du taux d'Hb recommandé pour indiquer une transfusion est généralement inférieur à 7 g/dl. Mais en cas d'altération de l'état général, la transfusion est indiquée chez les patients ayant un taux d'Hb égal à 8 g/dl.

- Quatre cas, soit 44,4%, sont transfusés à la demande et ils ont bénéficié d'une à deux transfusions.
- Deux cas, soit 22,2%, sont transfusés 3 fois avec un délai moyen de transfusions de 4 mois.
- Trois cas, soit 33,3%, sont polytransfusés. Un cas a un délai irrégulier entre transfusions allant de 2 mois à 2 ans, alors que les 2 cas restants, ont un délai de transfusions d'un mois.
- 9 patients, soit 50 % des cas, n'ont jamais été transfusés (Tableau 6).

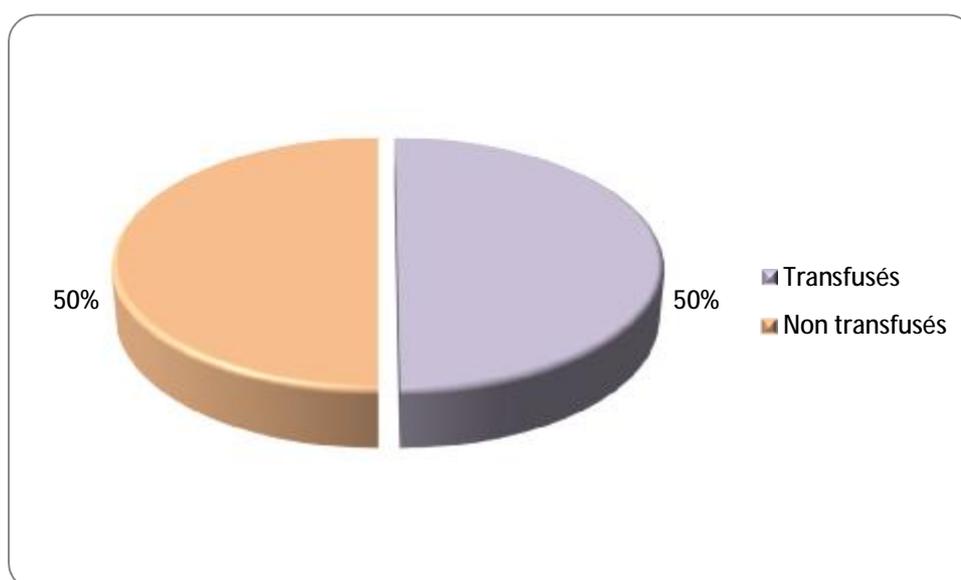


Figure 19: Répartition des patients selon les besoins transfusionnels.

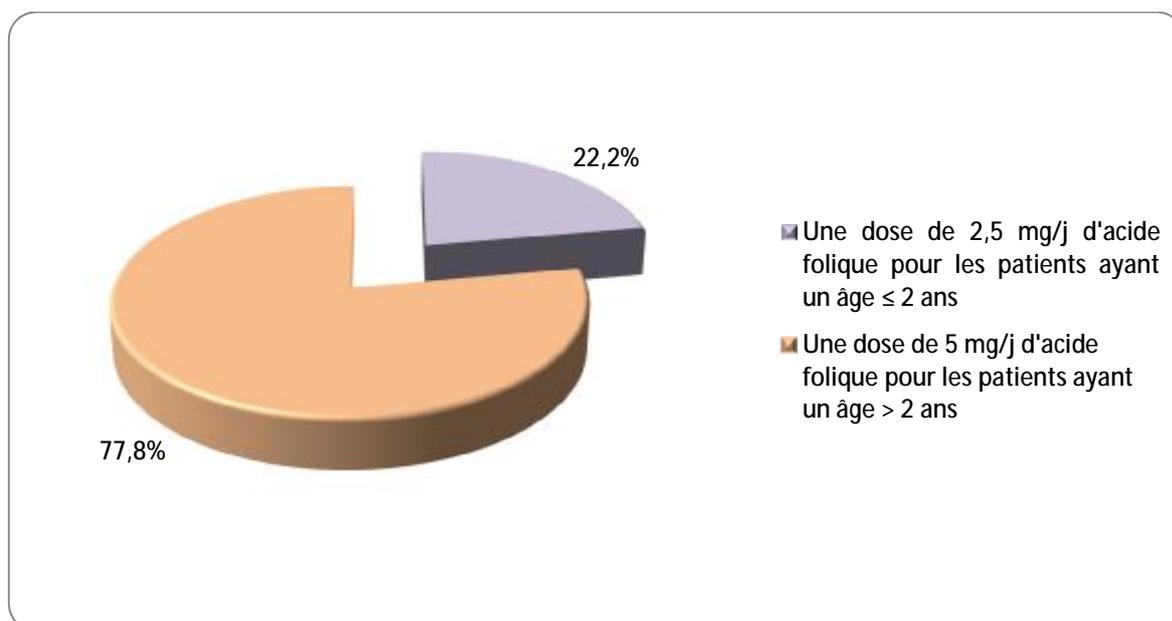
**Tableau 7 :** Répartition des cas selon le nombre de transfusions effectuées.

Nombre de transfusions	Effectifs	Fréquence
1 fois	2	22,2%
2 fois	2	22,2%
3 fois	2	22,2%
plus de 3 fois	3	33,3%
Total	9	100%

### 7.2. Acide folique :

Dans notre série, tous les patients, soit 100% des cas, ont reçu une supplémentation de l'acide folique :

- Quatre patients, soit 22,2% des cas, âgés de moins de 2 ans, ont été mis sous 2,5 mg/jour d'acide folique.
- Quatorze patients, soit 77,8% des cas, âgés plus de 2 ans, ont été mis sous 5 mg/jour d'acide folique.

**Figure 20 :** Répartition des cas selon la prise de l'acide folique selon l'âge.

### 7.3. Traitement martial :

Dans notre série, 5 cas, soit 27,8%, ont été mis sous suppléments en fer pour anémie ferriprive associée (Figure 23).

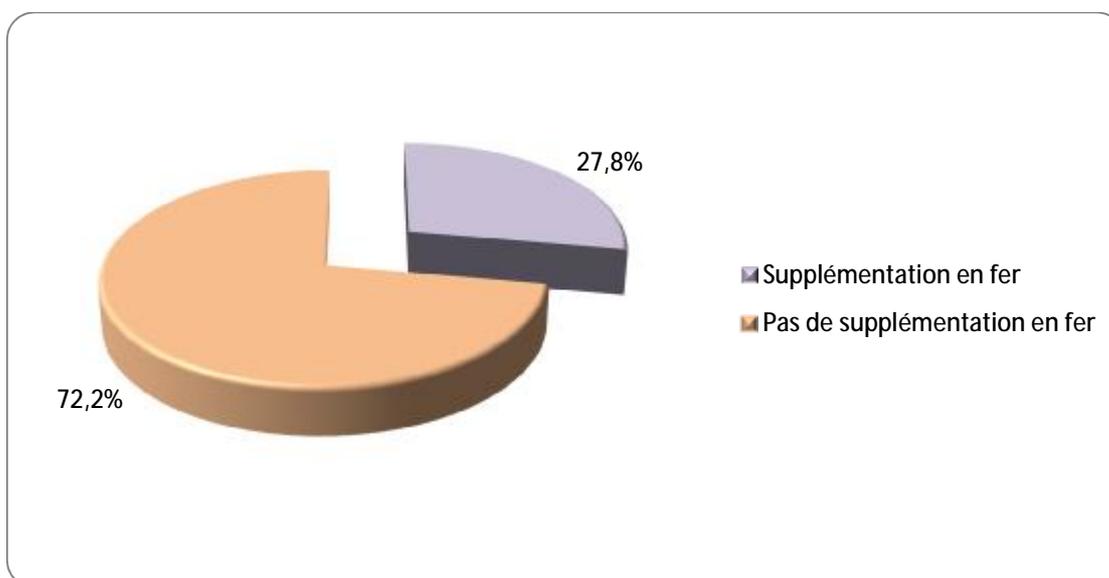
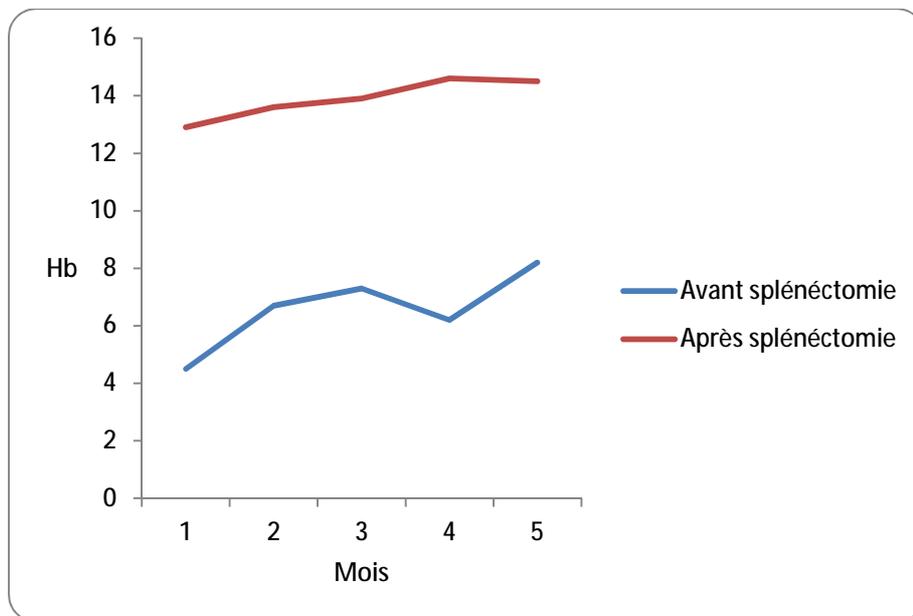


Figure 21 : Répartition des cas selon la prise du traitement martial.

### 7.4. Traitement chirurgical :

#### 7.4.1. Splénectomie :

Un seul patient, soit 5,6% des cas, âgé au moment de l'intervention de 7 ans et 2 mois, est splénectomisé pour une forme sévère de sphérocytose avec dépendance transfusionnelle. Il a bénéficié d'une vaccination (contre le pneumocoque et le méningocoque) avant la splénectomie et d'une antibiothérapie prophylactique. Aucune complication n'a été enregistrée dans les suites opératoires. L'évolution est marquée par la disparition de l'anémie et une augmentation du taux de l'Hb (Figure 24).



**Figure 22** : Taux d'Hb avant et après la splénectomie chez une patiente

#### 7.4.2. Cholécystectomie :

Dans notre série, deux patientes, soit 11,1% des cas, sont cholécystéctomisées. L'âge moyen de la chirurgie est de 9 ans. Une autre patiente est candidate à un acte chirurgicale (lettre délivrée au chirurgien).

## 8. EVOLUTION ET COMPLICATION :

### 8.1. Crises d'hémolyses :

Dans notre série, 7 patients (soit 38,3% des cas) ont présenté des crises hémolytiques. Ces crises se sont manifestées cliniquement par : des frissons, une fièvre, des palpitations, des nausées, des vomissements, la majoration de l'ictère, des douleurs lombaires et abdominales, et des douleurs avec augmentation de la taille de la rate et du foie. Biologiquement, une anémie importante a été notée. L'hyperréticulocytose a été majeure. L'évolution après transfusion a été favorable chez tous les patients.

### 8.2. Crises d'érythroblastopénie :

Les crises d'érythroblastopénies n'ont pas été notées chez les patients de notre série.

### 8.3. Lithiase biliaire :

Trois cas de sexe féminin, soit 16,7% des cas, ont présenté une lithiase biliaire : 2 patientes ont une lithiase biliaire asymptomatique. Parmi elles, une patiente a bénéficié d'une cholécystéctomie et la deuxième est prévue pour chirurgie. La troisième patiente a développé une cholécystite avec lithiase de la voie biliaire principale pour laquelle elle a bénéficié d'une cholécystéctomie avec sphinctérotomie endoscopique.

# TABLEAU RECAPITULATIF

	Année D'admission	Sexe	Origine géographique	Age de diagnostic	ATCD Personnels et familiaux	Délai avant consultation	Motif de consultation	Manifestations cliniques
<b>Cas 1</b>	2011	F	Fès	13 ans	Anémie à l'âge de 4 ans	4 jours	Ictère	.Subictère .Pâleur modérée .Splénomégalie à 3 TDD .RSP à -3 DS
<b>Cas 2</b>	2011	M	Fès	13 ans	.Anémie .Consanguinité de 1 <sup>er</sup> degré .Mère suivie pour la SH	2 mois	Pâleur cutanéomuqueuse	Pâleur modérée
<b>Cas 3</b>	2011	M	Fès	10 ans	.Anémie .Transfusé une seule fois .Consanguinité de 1 <sup>er</sup> degré .Sœur suivie pour SH	1 an	Syndrome anémique	.Pâleur minimale .Splénomégalie à 3 TDD

	Hémoglobine+ Réticulocytes	Frottis Sanguin	Test de résistance globulaire aux solutés hypotoniques	Echographie abdomino- pelvienne	Traitement	Evolution
Cas 1	Hb : 4.8g/dl Réticulocytes : 494560/ mm <sup>3</sup> - 17,6 %	Anisocytose + anisochromie + sphérocytes	+	microlithiases vésiculaire+ splénomégalie homogène	.Transfusion à la demande 2 mois- 2 ans .Acide folique .Cholécystéctomisé à l'âge de 15 ans et 11 mois	Stable
Cas 2	HB :9,7g/dl Réticulocytes:14 800/mm <sup>3</sup> - 0,30%	sphérocyte+ anisopoikilocy- tose	+	Non faite	Acide folique	Perdu de vue
Cas 3	Hb :8.8 g/dl Réticulocytes: non faites	microcytose hypochromie	+	Splénomégalie homogène	.Acide folique .Traitement martial pendant 3 mois	Stable

	Année D'admission	Sexe	Origine	Age au diagnostic	ATCD Personnels et familiaux	Délai avant consultation	Motif de consultation	Manifestations cliniques
Cas 4	2011	F	Fès	6 ans	.Anémie à l'âge de 5 ans. .Transfusé une seule fois. .Consanguinité de 1 er degré .Frère suivi pour SH	1 an	Syndrome anémique	Pâleur minime
Cas 5	2011	F	Fès	4 ans	.Mère suivie pour la SH .Mère Splénectomisée	6 mois	Pâleur cutanéomuqueuse	Pâleur modérée Splénomégalie à 4 TDD
Cas 6	2011	F	Fès	8 ans	.Anémie à l'âge de 4 mois .Transfusée une seule fois .Consanguinité de 1 er degré	7 ans et 8 mois	Pâleur cutanéomuqueuse	.Pâleur modérée .Ictère .Splénomégalie à 6 TDD
Cas 7	2011	F	Fès	13 ans	Anémie à l'âge de 2 ans	11 ans	Ictère	.Pâleur minime .Splénomégalie à 3 TDD .Subictère

	Hémoglonine – réticulocyte	Frottis Sanguin	Test de résistance Globulaire aux solutés hypotoniques	Echographie abdominale	traitement	Evolution
Cas 4	Hb : 8,1 g/dl Reticulocytes : non faites	Anisochromie	+	Normale	Acide folique	Stable
Cas 5	Hb : 5,2 g/dl Réticulocytes : 273060 /mm <sup>3</sup> -11,1%	aniso- poikilocytose avec présence de sphérocytose	+	Splénomégalie homogène	.Transfusion Rythme : mensuel .Acide folique .Traitement martial .Vaccination .splénectomie	Rémission Complète
Cas 6	Hb : 8,9 g/dl Réticulocytes : 270000/mm <sup>3</sup> 8.52%	Sphérocyte+++	+	Hépatomégalie homogène VB microlithiasique à paroi fine ; splénomégalie de 17 cm homogène	Transfusion (1 /5 mois) Acide folique Traitement martial	Stable
Cas 7	Hb : 8.6 g/dl Réticulocytes : 394800/mm <sup>3</sup> -13,6%	Sphérocyte+++	+	Normale	Acide folique	Stable

	Année D'admission	Sexe	Origine géographique	Age de diagnostic	ATCD Personnels et familiaux	Délai avant consultation	Motif de consultation	Manifestations cliniques
<b>Cas 8</b>	2014	F	Meknès	10 ans	.Anémie à l'âge de 5 ans .Transfusée une fois .Consanguinité de 1 er degré	5 ans	Pâleur CM+ ictère	.Pâleur modérée .Splénomégalie à 5 TDD
<b>Cas 9</b>	2015	M	Fès	Un an et 2 mois	.Anémie à l'âge de 4 mois .Transfusé 5 fois .Consanguinité de 1 er degré	10 mois	.Référé de HIK pour pec de thalassémie	.Pâleur minime .Splénomégalie à 5 TDD .Dysmorphie cranio faciale
<b>Cas 10</b>	2015	M	Taounat	7 ans	.Ictère néonatal .Anémie à la naissance .Transfusé à la naissance	7 ans	Syndrome anémique	.Pâleur minime .Splénomégalie à 2 TDD

	Hémoglobine- réticulocyte	Frottis Sanguin	Test de résistance globulaire aux solutés hypotonique	Echographie abdominale	traitement	Evolution
Cas 8	Hb : 8.8 g/dl Réticulocytes : 218000/mm <sup>3</sup> - 7,7%	microcytose hypochromie	+	Non faite	.Transfusion (Une/ 5mois) .Acide folique	Stable
Cas 9	Hb : 7.1 g/dl Réticulocytes : 11000/mm <sup>3</sup> - 0,44%	microcytose hypochromie	+	Splénomégalie homogène	.Transfusion (mensuelle) .Acide folique	Stable
Cas 10	Hb : 5.8g/dl Réticulocytes : 293400- 18,33%		+	Non faite	.Transfusion (annuelle) .Acide folique	Stable

	Année D'admission	Sexe	Origine	Age de diagnostic	ATCD Personnels et familiaux	Délai avant consultation	Motif de consultation	Manifestations cliniques
Cas 11	2015	M	Fès	13 ans	.Ictère néonatal .Anémie à l'âge de 5 ans .Transfusé .Cousin maternel suivi pour pathologie hématologique indéterminée	8 ans	.Référé de HIK pour pec de drépanocytose	.Pâleur minime .Subictère .Splénomégalie à 3 TDD
Cas 12	2015	M	Fès	2 mois et 22 jours	.Anémie à l'âge de 2 mois 22 jours .Transfusé une fois .Consanguinité de 1 er degré .Mère suivie pour de SH	22 Jours	Pâleur CM	.Pâleur minime .Splénomégalie à 2 TDD .Aénoopathie sous mandibulaire
Cas 13	2015	M	Khénifra	5 ans	.Anémie à l'âge de un an traité par le fer .Consanguinité de 2ème degré	4 ans et 4 mois	Pâleur CM	.RSP -3DS .Pâleur minime
Cas 14	2015	M	Fès	7 mois 18 jours	.Ictère néonatal (photothérapie) .Anémie à la naissance .transfusion à la naissance	1 mois	Pâleur CM	.Pâleur minime .Subictère

	Hémoglobine-réticulocytes	Frottis sanguin	Test de résistance Globulaire aux solutés hypotoniques	Imagerie	Traitement	Evolution
Cas 11	Hb : 9.2g/dl Réticulocytes : 203780/mm <sup>3</sup> - 4,6%	microcytose hypochrome	+	Non faite	.Transfusion à la demande .Acide folique .Traitement martial	Stable
Cas 12	Hb : 6.5g/dl Réticulocytes : 213000/mm <sup>3</sup> - 9%	Non fait	+	Non faite	.Transfusion à la demande .Acide folique	Stable
Cas 13	Hb:11.2 g/dl Réticulocytes : 72600/mm <sup>3</sup> - 1,65%	Sphérocytes+++	+	Non faite	Acide folique	Stable
Cas 14	Hb:6,3g/dl Réticulocytes : 288650/mm <sup>3</sup> - 11,545%	Sphérocytes+++	+	Non faite	Transfusion (trimestrielle) Acide folique	Stable

	Année D'admission	Sexe	Origine	Age de diagnostic	ATCD Personnels et familiaux	Délai avant consultation	Motif de consultation	Manifestations cliniques
Cas 15	2015	F	khenifra	11 ans	.Ictère néonatal .Anémie à l'âge de 9 ans .Lithiase vésiculaire chez la tante	2 ans	Sd anémique	.Pâleur minimale .Subictère .Splénomégalie à 4 TDD
Cas 16	2016	M	Fès	2 mois	.Ictère néonatal .Père+mère +sœur suivis pour SH	0	Dépistage	Aucun
Cas 17	2016	F	Fès	2 ans et 2 mois	.Ictère néonatal .Père +mère+frère suivis pour SH	15 mois	Ictère	Pâleur minimale
Cas 18	2016	M	Fès	9 ans et 4 mois	.Ictère néonatal .Anémie à l'âge de 9 ans .Mère splénectomisée, suivie pour la SH	5 ans et 4 mois	Ictère	Subictère Splénomégalie à 1 TDD

	Hémoglobine et réticulocytes	Frottis Sanguin	Test de résistance Globulaire aux solutés hypotoniques	Imagerie	Traitement	Evolution
Cas 15	Hb:10,8g/dl Réticulocytes: non faites	Non fait	Non fait	Non faite	Acide folique	Perdu de vu
Cas 16	Pas de document	Non fait	+	Non faite	Acide folique	Stable
Cas 17	Hb: 11.8 g/dl Réticulocytes:28500/mm <sup>3</sup> - 0,68%	Non fait	+	vésicule biliaire multilithiasique Bili-IRM:VB lithiasique de paroi fine et régulière +présence de calcul de 15 mm de diamètre dans canal cystique avec dilatation VBIH	.Acide folique .cholecystéctomie .Sphinctérectomie endoscopique	Stable
Cas 18	Hb:12g/dl Réticulocyte:176400/mm <sup>3</sup> -3,92%	Sphérocytes	+	Normale	Acide folique	Stable

## IV-DISCUSSION

### 1. Historique :

En 1871, VANLAIR et MASIUS ont décrit les premiers symptômes de la maladie en rapportant l'observation d'une jeune femme souffrant de gastralgies, d'ictère récidivant et de splénomégalie avec reconnaissance d'une « microcyte de forme parfaitement sphérique » [41-43].

En 1890, WILSON a observé six membres d'une même famille qui présentaient une splénomégalie accompagnée d'un teint subictérique. L'hypothèse du caractère héréditaire est alors posée [42,43].

En 1900, MINKOWSKI fait la description clinique de « l'ictère chronique héréditaire avec la splénomégalie » [44].

En 1907, CHAUFFARD analyse les relations de la sphérocytose et les modifications de la résistance osmotique. Il explique la pathogénie de l'ictère congénital de l'adulte par une destruction importante des GR, décrit une augmentation de la fragilité globulaire à l'hémolyse par des solutés hypotoniques. Le rôle de la rate dans la physiopathologie de la maladie est suspecté [45].

En 1913, PLATE soupçonne la transmission autosomique dominante.

De nombreux auteurs étudient par la suite la maladie de Minkowski Chauffard et lui donnent des dénominations variées [43]:

- Ø 1926 : CAMPBELL l'appelle la jaunisse acholurique.
- Ø 1931 : NAEGELI l'appelle l'anémie hémolytique constitutionnelle.
- Ø 1936 : KRUMBHARR parle d'ictère sphérocytaire.
- Ø 1936 : DEBRE et collaborateurs parlent de maladie hémolytique familiale et prouvent le mode de transmission autosomique dominant.

Ø 1943 : DACIE utilise le nom d'anémie hémolytique familiale et montre le caractère corpusculaire de la lésion. Il a reconnu le rôle curatif de la splénectomie dans ce désordre [46].

C'est en 1950, que le comité de nomenclature (Comitee for Clarification of the Nomenclature of Cells and Diseases of the Blood and Blood forming organs) adopte le nom de la SH [43]. Dès 1922, TILESTON émet l'hypothèse que certains ictères du nouveau-né peuvent être l'expression clinique initiale d'une maladie hémolytique familiale [47]. Les différentes étapes de l'historique ont permis de détenir que la SH est une anémie hémolytique inhérente à l'anomalie de la membrane érythrocytaire. La reconnaissance de cette maladie est basée sur les faits suivants, inconstamment groupés [48]:

- Ø Hyperhémolyse à transmission héréditaire typiquement dominante, avec présence de sphérocytes,
- Ø Diminution de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques,
- Ø Augmentation de l'autohémolyse à 37°C corrigée par le glucose,
- Ø Tests négatifs de Coombs et d'électrophorèse de l'Hb,
- Ø Séquestration splénique préférentielle des hématies marquées au Chrome 51,
- Ø Efficacité constante de la splénectomie [49].

## 2. EPIDEMIOLOGIE :

### 2.1. Fréquence :

La SH ou maladie de Minkowski Chauffard est la plus fréquente des maladies constitutionnelle du GR. Sa répartition géographique est ubiquitaire. On estime que sa fréquence est de l'ordre de 1/5000 naissances en Europe et en Amérique du Nord si on exclut toutes formes confondues (Dans les formes asymptomatiques ou sub-cliniques, la prévalence est de 1/2000) [2,50]. Cette pathologie n'a pas d'électivité ethnique ; néanmoins sa prévalence est beaucoup plus faible dans les populations de la race noire issue d'Afrique Sub- Saharienne et d'Amérique. En 1957, Kline et Holman, ont rapporté que seulement 42 Américains de la race noire ont présenté la SH, tandis qu'aucun cas n'a été trouvé chez les Africains de la même race [51]. La SH a été également trouvée dans autres groupes ethniques : l'Algérie, la Tunisie, l'Egypte, la Corée, le Sud- Est de la Chine, l'Inde, les Etats Unis, l'Allemagne, et le Brésil [50].

De nombreuses études menées à travers le monde entier montrent les résultats cités dans le tableau (2).

En chine, selon une étude réalisée par Chao Wang et al. durant une période de 36 ans allant du 1er janvier 1978 jusqu'au 30 décembre 2013. L'incidence de la SH chez les enfants âgés moins de un an est de 0,0368 cas pour 100000. Chez les enfants âgés entre 1 et 4 ans, l'incidence est estimée à 0,03835 cas pour 100000. Enfin, chez les enfants âgés entre 5 et 14 ans, l'incidence de cette tare est estimée à 0,0359 cas pour 100000 (tableau 3) [55].

Au Maroc l'incidence réelle de la SH reste non définie. Selon une étude faite au CHU Avicenne de Rabat [57], allant du 1<sup>er</sup> Janvier 2000 au 30 Décembre 2001, trente enfants ont été diagnostiqués porteurs de la SH. Quatorze (46,67%) cas ont été enregistré en 2000 et 16 cas (53,33%) en 2001. La maladie a été très répandue dans

la région de Rabat, Salé, Tamera, Lakcer Kbir, Sidi Benour, Doukala, Benslimane avec un grand effectif à Rabat (8 cas) et Salé (6 cas) [57].

Dans notre étude, 18 cas d'enfants atteints de la SH sont diagnostiqués à l'unité d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU Hassan II Fès. L'incidence comparée entre 2011 et 2016 montre une augmentation de la SH en 2011 et en 2015 (38,9%). Cette maladie est fréquente dans la Région de Fès, Meknès, khénifra et Taounat avec un grand effectif à Fès (14 cas) probablement en rapport avec la proximité du CHU à ces villes.

**Tableau 2:** Fréquence de la SH dans différents groupes ethniques.

Auteurs	Pays/villes	Incidence de la SH	Prévalence de la SH
Morton et al [50].	Europe du nord et l'Amérique du nord	1cas /5000 naissances	-
Safaqat shah, Roger Vega, et al [52].	Etats unis	1 cas pour 5000 habitants	-
Zerhouni et al [53].	Alger	1 cas pour 1000 habitants	-
Stefan Eber et al [54].	Allemagne	1 cas pour 2000-2500 naissances	-
Chao Wang, et al [55].	Chine	-	1,38 pour 100000 habitants
N.E. Morton, et al [56].	Londres	-	130 pour million habitants
N.E. Morton, et al [56].	New York	-	350 pour million habitants

Tableau 3: Estimation de l'incidence de la SH en Chine sur une période de 36 ans allant de 1978 à 2013 (par tranches d'âges) [55].

Age	Incidence de la SH chez les garçons*100000	Incidence de la SH chez les filles *100000	Total
<1 an	0, 0359	0 ,0377	0 ,0368
1 -4	0, 0377	0 ,0390	0,03835
5- 14	0, 0364	0 ,0354	0,0359

## 2.2. Répartition des cas selon l'âge :

Dans la majorité des cas, la SH est diagnostiquée au cours de l'enfance, surtout entre 5 et 10 ans mais du fait du grand polymorphisme clinique, elle peut l'être à tout âge, depuis la période néonatale jusqu'au troisième âge [50]. Dans notre série, le diagnostic de la SH est fréquent après l'âge de 5 ans. Ces résultats sont compatibles avec ceux avancés dans la littérature qui signalent une fréquence d'atteinte plus élevée dans cette tranche d'âge (tableau 4) [56,58,59].

Dans notre étude, l'âge moyen au diagnostic correspond à 7 ans. Il est plus proche de celui avancé par O1afur Jensson et al qui est égal à 7,7 ans et celui de Anirban Das et al qui est égal à 6,7 ans, mais supérieur à ceux avancés par Amina Abdel-Salam et al, Hee jung Choi et al, Wafaa Lahcini et al, et par MT Koh et al qui sont respectivement égaux à 3,4 ans; 3,9 ans ; 5,8 ans et 5,9 ans (tableau 5) [57,58,60-63].

**Tableau 4:** Répartition des cas atteints de la SH par tranches d'âges dans différentes séries.

Auteurs	Pays	Fréquence de la SH avant l'âge de 5 ans	Fréquence de la SH après l'âge de 5 ans	Total
Morton et al [56].	Madison	1 cas	6 cas	7 cas
MT Koh et al [58].	Malaysia	5 cas	6 cas	11 cas
Robert D.Croom et al [59].	Nord de Caroline	5 cas	10 cas	15 cas
<b>Notre étude</b>	<b>Fès</b>	<b>7 cas</b>	<b>11 cas</b>	<b>18 cas</b>

Tableau 5: Age moyen de diagnostic des patients selon les études.

Etudes	Pays	Nombre des sujets atteints par la SH	Extrêmes des échantillons	Age moyen de diagnostic (ans)	Médiane des âges (ans)
MT Koh et al [58].	<i>Malaysia</i>	11	1 mois à 14 ans	5,9	-
Anirban Das et al [61].	<i>PGIMER, Chandigarh, India.</i>	82	1 mois à 15 ans	6 ,7	2
Hee joungh Choi et al [63].	<i>Kyungpoo, Korea</i>	13	2 mois à 8 ans et 3 mois	3,9	-
Amina Abdel Salam et al [62].	<i>Cairo, Egypt</i>	40	2 mois à 11 ans	3,4	2,5
Olafur Jensson et al [60].	<i>Reylylavik, Iceland</i>	6	2 ans à 16 ans	7,7	-
Wafaa Lahcini et al [57].	<i>Rabat, Morocco</i>	30	16 jours à 15 ans	5,8 ans	-
<b>Notre étude</b>	<b>Fez, Morocco</b>	<b>18</b>	<b>2 mois à 13 ans</b>	<b>7 ans</b>	<b>7,16</b>

L'augmentation de l'âge moyen au diagnostic des patients de notre série est imputable aux déterminants suivants :

i) Les déterminants socio-économiques :

Ø Le problème de l'accessibilité géographique des structures de santé dans certaines régions du pays.

Ø La pauvreté.

ii) Les déterminants culturels :

Ø La méconnaissance de la maladie et l'ignorance des risques possibles.

Ø Illettrisme.

iii) Les déterminants liés à la maladie :

Ø Consultations antérieures multiples avant l'admission à notre service.

Ø Diagnostic initial erroné, un cas a été suivi pour drépanocytose pendant 8 ans et un autre cas a été suivi pour thalassémie pendant 10 mois.

Ø Forme asymptomatique de la maladie (la découverte se fait tardivement lors d'une complication).

iv) Les déterminants liés à l'échantillon :

Ø Ecart-type différent d'une série à l'autre.

Ø L'étendue différente d'une série à l'autre.

### 2.3. Répartition des cas selon le sexe :

La SH touche indifféremment les deux sexes. Le sex ratio est de 1,04. Dans notre étude, la SH est légèrement supérieure chez les garçons. Le sex-ratio est de 1,25 (10 garçons/ 8 filles). Notre résultat est identique à celui avancé par Maria Christina Lopes et al (sex-ratio= 1,25), il est plus proche de ceux avancés par MT Kohet al, Wafaa Lahcini et al, et par O1afur Jensson et al où les valeurs du sex-ratio sont respectivement égales à 1,2 ; 1,3 ; et 1,33 (tableau 6) [55,57,58,60,64].

Deux études Egyptiennes ont rapporté que cette légère prédominance masculine s'explique par le mode de transmission génétique liée à l'X [65]. Cette hypothèse a été réfutée récemment non seulement par la distribution égale de la SH dans les deux sexes, mais également par l'existence des gènes responsable de la maladie dans plusieurs chromosomes autosomiques dont 1, 8, 14, et 17 [62,66-68]. Au sein des cas de notre échantillon, on distingue deux catégories selon l'âge et le genre. D'une part, la première catégorie, qui regroupe les cas âgés de moins de 5 ans, se caractérise par la prépondérance du sexe masculin, avec une proportion égale à 71,4%. D'autre part, la seconde catégorie, qui comprend les cas âgés de plus de 5 ans, connaît la prépondérance du sexe féminin, avec une proportion égale à 54,5%. Cette distinction peut être due à :

- Ø Un échantillon biaisé ne représentant pas la population générale atteinte de la SH.
- Ø Les porteurs de la maladie peuvent être asymptomatiques, la maladie reste méconnue pendant des années et découverte suite à une complication.
- Ø les sujets atteints peuvent avoir des bilans biologiques normaux.
- Ø La pénétrance et l'évolution est différente entre les deux sexes.

#### 2.4. Conditions socio-économiques :

Antoni Canedo Colado pense que certains facteurs socio-économiques affectent l'évolution de la maladie, la grande fréquence de la forme sévère, les risques d'infection semblent être en rapport avec un milieu socio économique défavorable. On incrimine l'insuffisance sanitaire et un régime alimentaire déficient [70]. Dans notre étude, 72,2% des patients ont un bas niveau.

Tableau 6: Répartition de la SH selon le sexe dans les différentes séries (M/F : masculin/féminin).

Auteurs	Sexe masculin	Sexe féminin	Sex-ratio M/F
Abrams, et al [56].	65 cas	64 cas	1,02
MT Koh et al [58].	6 cas	5 cas	1,2
Maria Christina Lopes et al [64].	35 cas (55,6%)	28 cas (44,4%)	1,25
Capan Konca et al [69].	36 cas (52,9 %)	32 cas (47,1 %).	1,13
Amina Abdel -Salam et al [62].	25 cas (62,5%)	15 cas (37,5%)	1,7
D.Croom et al [59].	8 cas	7 cas	1,14
Olafur Jensson et al [60].	4 cas	3 cas	1,33
Wafaa Lahcini et al [57].	17 cas	13 cas	1,3
Hee Joung Choi et al [63].	6 cas	7 cas	0,9
<b>Notre étude</b>	<b>10 cas (55,6%)</b>	<b>8 cas (44,4%)</b>	<b>1,25</b>

## 2.5. Antécédents familiaux :

Dans notre série, la notion de consanguinité est présente dans 8 cas soit 44,4%, 7 cas soit 87,5% ont une consanguinité de 1er degré et un cas soit 12,5% a une consanguinité de 2ème degré. Ce résultat est proche de celui trouvé dans la série de C.apan Konca et al où la consanguinité est présente chez 39,7% des patients (tableau 7) [69].

Par ailleurs, 44,4% des patients de notre étude ont un antécédent familial de SH. Alors que 55,56% des patients ont été considérés comme des cas sporadiques. Parmi ces patients qui n'avaient pas d'antécédents familiaux, il existe 3 cas soit 30% dont :

- Ø un cousin maternel est suivi pour une pathologie hématologique indéterminée.
- Ø une tante maternelle présente une lithiase vésiculaire non cholécystéctomisée.
- Ø une mère et un oncle maternel suivis en médecine interne pour anémie sévère.

Nos résultats sont dans ce sens plus comparables avec ceux observés dans la série de Capan Konca et al (44,1%), et la série d'Adlette Inati et al (50%) (tableau 7) [69,71].

Il convient de rappeler que dans notre travail, l'âge moyen des patients ayant un antécédent familial (5,62 ans) est inférieur à l'âge moyen des cas n'ayant pas d'histoire familiale (8,18) ans. Pour vérifier ce résultat, nous avons fait appel au test d'indépendance de khi-deux. L'application de ce test montre que la valeur de p est égale à 0,453 et donc elle n'est pas significative.

Tableau 7 : Antécédents familiaux et consanguinité dans différentes séries.

Series	Histoire familiale	Consanguinité
Amina Abdelsalam et al [62].	75%	25%
Aniban Das et al [61].	35%	-
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64].	57%	-
Capan Konca et al [69].	44,1%	39,7%
MT Koh et al [58].	63,6%	36,4%
Hee jounng choi et al [63].	76,9%	-
Adlette et al [71].	50 %	-
Notre étude	44,4%	44,4%

### 3. BASES GENETIQUES DE LA SPHERPCYTOSE HEREDITAIRE :

#### 3.1. Gènes impliqués dans la SH :

La connaissance des gènes et de leurs transcrits codant pour les principales protéines du squelette membranaire érythrocytaire a permis la connaissance de la séquence primaire de la protéine, et de comprendre la pathologie génétique de ces protéines. Enfin, elle devrait permettre de mieux caractériser les mécanismes qui sont à l'origine des formes érythroïdes et non érythroïdes de ces protéines (familles multigéniques, épissages alternatifs) et d'analyser les différences qui existent pour un même système cellulaire entre différentes espèces. Les gènes codant les protéines de la membrane de l'érythrocyte et leurs emplacements chromosomiques respectifs sont connus (tableau 8) [4,23,72].

**Tableau 8:** Principaux gènes impliqués dans la sphérocytose héréditaire.

	Protein	Gene	Location	Exons	Aminoacids	Molecular weight <sup>1</sup> (gel/calculated)	Oligomeric state
SDS-PAGE band 1	α-spectrin	SPTA1	1q22-q23	52	2429	240/281	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 2	β-spectrin	SPTB	14q23-q24.1	32	2137	220/246	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 2.1	Ankyrin-1	ANK1	8p11.2	42	1880	210/206	Monomer
SDS-PAGE band 2.9	β-adducin	ADD2	2p13.3	16	726	97/80	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 3	Band 3 (AE1)	SLC4A1	17q21	20	911	90-100/102	Dimer/tetramer
SDS-PAGE band 4.1R	Protein 4.1	EPB41	1p33-p34.2	>23	588	80+78*/66	Monomer
SDS-PAGE band 4.2	Protein 4.2	EPB42	15q15-q21	13	691	2/77	Dimer/trimer
SDS-PAGE band 4.9†	Dematin	EPB49	8p21.1	15	383	48+52/43	Trimer
	p55	MPP1	Xq28	12	466	46+55/53	Dimer
SDS-PAGE band 5‡	β-actin	ACTB	7pter-q22	6	375	43/42	Oligomer
	Tropomodulin	TMOD	9q22	9	359	43/41	Monomer
SDS-PAGE band 6	G3PD	GAPD	12p13	9	335	35/36	Tetramer
SDS-PAGE band 7§	Stomatin	STOM	9q33.2	7	288	31/32	--
	Tropomyosin	TPM3	1q31	13	239	27+29/28	Heterodimer
SDS-PAGE band PAS-1¶	Glycophorin A	GYP A	4q31.21	7	131	36/14	Dimer
SDS-PAGE band PAS-2¶	Glycophorin C	GYP C	2q14-q21	4	128	32/14	--
SDS-PAGE band PAS-3¶	Glycophorin B	GYP B	4q31.21	5	72	20/8	Dimer
	Glycophorin D	GYP D	2q14 q21	4	107	23/11	--

AE1=anion exchange protein-1. G3PD=glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. PAS=periodic acid Schiff reagent. SDS-PAGE=sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. \*Protein 4.1 is a doublet of 4.1a and 4.1b on SDS-PAGE gel. †Band contains both dematin and p55. ‡Band contains β actin and tropomodulin. §Band contains stomatin and tropomyosin. ¶Glycophorins are visible only on PAS-stained gels. ||Glycophorins C and D arise from alternative translation initiation sites.

### 3.2. Altérations moléculaires des protéines de la membrane érythrocytaire dans la sphérocytose héréditaire:

Les altérations moléculaires qui mènent à l'apparition de la SH sont décelées par un large champ d'investigation : examens microscopiques des frottis sanguins, électrophorèses SDS-PAGE ou études de l'association des protéines. Il est possible d'approfondir les examens au niveau moléculaire pour identifier le spectre des mutations susceptibles d'aboutir à la SH [3]. La plupart des mutations sont « privées » ou sporadiques, c'est-à-dire qu'elles sont uniques pour une famille donnée. La connaissance du gène muté n'influe en rien la prise en charge clinique des patients. La distribution par type de sphérocytose a fait l'objet d'un bilan récent. Un peu plus de 60% sont associés à des anomalies de l'ankyrine et environ 20% à des altérations de la bande 3. Les 20% restants rassemblent des cas atypiques dont, sans doute, des mutations de la protéine 4.2 (altérant sa qualité, non sa quantité), et bien d'autres anomalies qu'il sera passionnant de découvrir [11].

Les mutations rapportées à la SH sont toutes situées sur des gènes codant pour une des protéines intervenant dans les interactions verticales. Selon une classification limpide, on distingue :

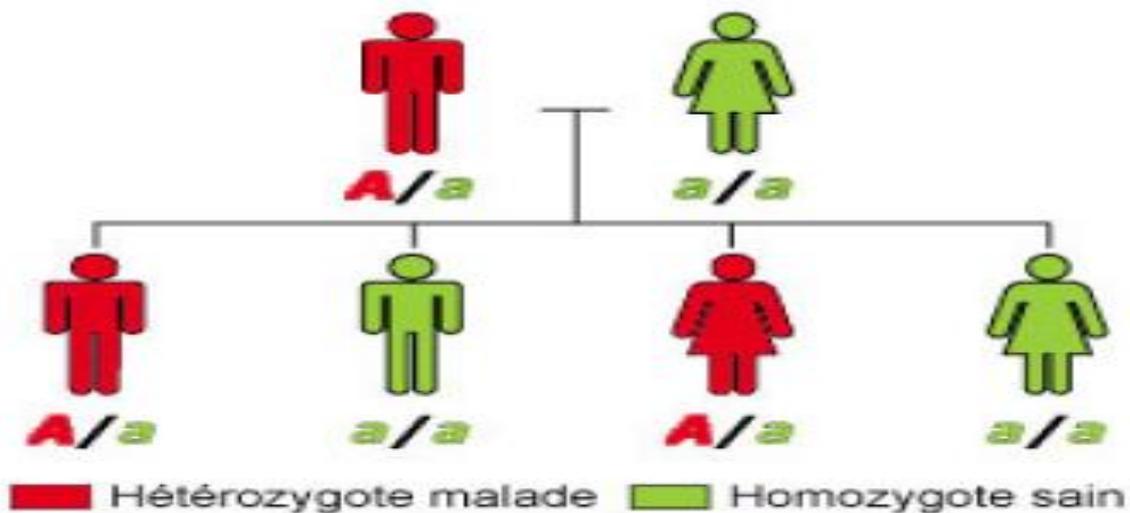
- ✓ Des mutations du cadre de lecture, correspondant à des délétions ou des insertions d'un nombre variable de nucléotides aboutissant à une altération de l'extrémité C-terminale de la protéine ;
- ✓ Des mutations non sens provoquant un arrêt prématuré de la traduction et la formation d'une protéine tronquée ;
- ✓ Des mutations faux sens correspondant à la substitution d'une paire de base ;
- ✓ Des mutations du site d'épissage provoquant un épissage anormal lors de la transcription ;
- ✓ et des délétions importantes du génome [73].

Un catalogue régulièrement mis à jour de toutes les mutations responsables d'anomalies de la membrane érythrocytaire est disponible sur le site web de the Human Gene Mutation Database [74].

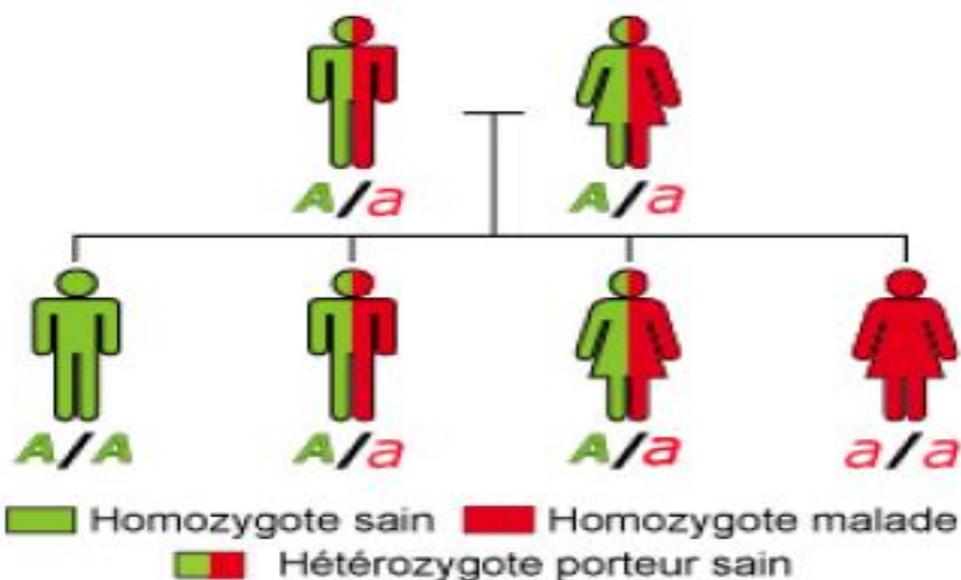
La SH se transmet dans 75 à 80% selon un mode autosomique dominant, ce qui signifie qu'un malade sur deux a un risque de transmettre la maladie à chacun de ses enfants, quel que soit leur sexe [75].

Dans 15 à 20% des cas, la transmission se fait de façon récessive, ce qui signifie que les parents ne sont pas malades, mais qu'ils sont tous les deux porteurs d'un gène défectueux. Seuls les enfants ayant reçu le gène défectueux (muté) à la fois de leur père et de leur mère sont atteints. Ainsi, les personnes atteintes sont porteuses du gène muté en deux exemplaires (elles sont dites homozygotes) alors que chacun des parents n'en est porteur qu'à un seul exemplaire (ils sont dits hétérozygotes et ne sont pas malades). Dans ce cas, la probabilité d'avoir un autre enfant atteint est de

1/4 pour un couple ayant déjà donné naissance à un enfant malade. Ces formes récessives sont généralement plus sévères [75].



**Figure 9** : Illustration de la transmission autosomique dominante. Un des parents porte le gène muté (A) et est atteint de sphérocytose (en rouge). Un enfant sur deux reçoit le gène défectueux « A » de son père et hérite de la maladie [75].



**Figure 10** : Illustration de la transmission autosomique récessive. Les deux parents hétérozygotes portent le gène muté « a », L'enfant  $a/a$  homozygote est atteint de la SH. Les enfants  $A/a$  ne sont pas porteurs du gène muté et risquent de le transmettre à leur descendance. L'enfant  $A/A$  n'a hérité d'aucun gène muté [75].

Enfin, dans les 5 à 10% de cas restants, aucun des parents n'a de gène muté, et une nouvelle mutation est apparue spontanément chez l'enfant. Cette mutation, dite de novo, est elle-même transmissible à la descendance sur un mode dominant. Le risque de transmettre la maladie à ses enfants dépend donc du type de mutation en cause, et il est fortement conseillé de consulter un généticien (dans un centre de génétique médicale) pour une évaluation précise du risque et pour recevoir les explications appropriées. La multiplicité des protéines altérées ou absentes liés à la SH fait émerger un type d'anomalie cellulaire assez univoque. Aujourd'hui, nombreuses lignes de recherche se dessinant en matière de la génétique moléculaire décrivent les défauts moléculaires responsables d'une baisse de la stabilité des messages de transcription de l'ARN messenger (ARNm), de la production d'une protéine mutante, voire de la disparition de la fonction d'ancrage spécifique de la protéine, d'où un déficit quantitatif et/ou qualitatif le plus souvent [75].

### 3.2.1. Déficit en spectrine :

Le déficit en spectrine est la première des anomalies moléculaires à avoir été identifiée chez des patients porteurs de la SH. La sévérité de l'hémolyse était corrélée au degré de déficit en spectrine et de la réponse à la splénectomie. Dans une étude établie par Agre [76], le patient présentant une forme non dominante de la SH, souffrait d'une anémie bénigne ou sévère avec un taux de spectrine variant de 30 à 74% du taux normal. Par contre, les patients atteints d'une forme dominante présentaient une anémie bénigne avec un taux de spectrine variant de 63% à 81% du taux normal. Chez tous les patients de cette étude, le taux de spectrine était inversement proportionnel à la fragilité osmotique et lié à la réponse à la splénectomie [77]. Les mutations de la chaîne  $\alpha$  de la spectrine étaient associées aux formes récessives alors que les mutations de la chaîne  $\beta$  l'étaient dans les formes dominantes de la maladie. Ceci semble dû au fait que la chaîne  $\alpha$  de la spectrine est synthétisée

trois fois plus que la chaîne  $\beta$  ainsi la synthèse de la chaîne  $\beta$  de la spectrine est un facteur limitant pour la formation d'hétérodimères  $\alpha \beta$  de spectrine. Un déficit en chaîne  $\beta$  s'exprimera à l'état hétérozygote [78,23].

#### A. Déficit en chaîne Alpha de la spectrine :

Un déficit en chaîne  $\alpha$  ne s'exprimera qu'à l'état homozygote du fait de l'excès de production de chaîne  $\alpha$  (trois fois plus que la chaîne  $\beta$ ) [77,79,80]. Le premier cas rapporté de la chaîne  $\alpha$  spectrine se trouvait situé sur le cordon 969 (969 Ala<sup>®</sup> Asp) et a été retrouvé présent chez 50% des patients présentant une forme sévère récessive de la SH. Il apparaît maintenant que cette présumée mutation, représente un variant polymorphique spectrine Bug Hi II qui, quand il est associé à une mutation du gène SPTA 1, c'est cette deuxième mutation qui est responsable de la maladie [77]. Un de ces patients avec une forme sévère récessive  $\alpha$  II a été étudié. On a retrouvé chez lui deux mutations de la spectrine:

- § L'une héritée de son père sur l'intron 36 donnant une protéine instable et tronquée Alpha spectrine PRAGUE (Mutation in the paternal allele, designated alpha spectrin).
- § L'autre héritée de sa mère sur l'intron 30 donnant un ARN messenger aberrant produisant en quantité six fois moindre l'ARN messenger =  $\alpha$  spectrine LEPRO (Low Expression Prague). Cette interaction entre la mutation  $\alpha$  LEPRO avec le variant polymorphique Bug Hill pourrait être à l'origine de 50% des cas de la SH récessive [3,23,50,78,80].

#### B. Déficit en chaîne Bêta de la spectrine :

La grande majorité des déficits en spectrine est liée à des mutations situées sur le gène SPTB, codant la chaîne  $\beta$  de la spectrine. Les mutations à transmission dominante ont été identifiées dans la plupart des familles avec une SH en Amérique du Nord, France et Italie, et présentant un déficit en spectrine, ce que révèle l'absence de

l'expression d'un set haploïde de beta-spectrine. Les terminaisons prématurées de la traduction, par anomalies de l'excision des introns ou mutations non-sens qui déplacent le cadre de traduction, sont à la base de la plupart des mutations, responsables de la déstabilisation de l'ARNm et de l'instabilité du produit de transcription. Seule la mutation spectrine KISSIMMEE [78], produite par une substitution du tryptophane 202 en arginine, est située dans la région d'interaction avec l'actine et la protéine 4.1 et produit un défaut fonctionnel majeur. Le grand potentiel pathogène de ces mutations et leur transmission dominante sont dues, probablement, au fait que la beta-spectrine est synthétisée en quantité trois fois plus faible que l'alpha-spectrine, limitant la quantité de dimères de spectrine qui est disponibles pour être incorporée dans le squelette membranaire. Les mutations de la beta-spectrine mènent à une déstabilisation du site 48 (lysine) de la chaîne alpha, bien que beaucoup moins fréquentes, ont été très importantes pour la compréhension de l'interaction des deux sous-unités. Elles conduisent à une altération profonde de l'auto-association spD-SpD, les patients hétérozygotes présentent une anémie hémolytique, tandis que les homozygotes ou les doubles hétérozygotes présentent des maladies hémolytiques sévères ou, même, un *hydrops fetalis* fatal [23].

Dans tous les cas, les déficits de la chaîne  $\beta$  dans la SH, donnent des manifestations cliniques qui varient de « modérées à sévères ». On retrouve des sphérocytes associés chez les patients non splénectomisés à une population de 8 à 15% d'érythrocytes denses spéculés qu'on appelle des acanthocytes et qui ne sont pas retrouvés dans les autres formes de la SH [23,81-83].

### 3.2.2. Déficit en ankyrine :

L'association de la SH à des anomalies du chromosome 8 est connue depuis longtemps, tout comme celle avec le déficit d'ankyrine. Les études réalisées sur des patients ont mis en évidence que, malgré la synthèse normale de la spectrine, son incorporation dans le squelette membranaire était déficitaire, à cause d'une réduction importante de l'expression de l'ARNm de l'ankyrine. En parallèle, un cas de SH sévère due à la délétion complète du bras court du chromosome 8, contenant aussi le gène de l'ankyrine, a apporté la preuve directe de cette association. Le rôle essentiel joué par les formes mutantes de l'ankyrine dans certaines formes de la SH a été mis en évidence par l'analyse du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP), utilisant l'ADNc de l'ankyrine comme sonde, réalisée sur une famille atteinte de la SH autosomale dominante. L'étude a prouvé l'existence d'une liaison statistiquement significative entre le polymorphisme de l'ankyrine et l'expression de la maladie, tandis que les liaisons avec d'autres protéines du squelette membranaires étaient non significatives. Le dosage par des méthodes radio-immunologiques de la spectrine et de l'ankyrine a mis en évidence, chez la plupart des patients souffrant de la SH autosomale dominante, l'existence d'un déficit simultané des deux protéines avec une réduction équivalente des quantités de spectrine et d'ankyrine [23,84].

Il est évident qu'il existe un éventail très large de défauts moléculaires. Les mutations non-sens et celles qui déplacent le cadre de traduction sont associées à la SH à transmission dominante, tandis que les substitutions ponctuelles ou les mutations situées dans le promoteur du gène ANK1 sont associées à la SH de transmission récessive. La grande fréquence des défauts moléculaires de l'ankyrine chez les patients souffrant de la SH (jusqu'au 60% des cas) et la grande hétérogénéité des mutations qui les produisent indiquent une instabilité accrue du gène ANK1 qui code l'ankyrine, similaire à celles déjà connues pour les gènes codant le facteur VIII

de coagulation ou la dystrophine. Le fait que la plupart des mutations sont des délétions ou des insertions d'une ou quelques paires de nucléotides, placées le plus fréquemment dans les régions riches en paires G-C (55% - 67%), peut être dû à des glissements lors du processus de réplication de ces régions. Un problème difficile est de faire la différence entre les mutations de novo et les formes de la SH à transmission récessive.

Dans la SH récessive, deux mutations identiques (homozygotes) ou non (doubles hétérozygotes) doivent être présentes dans le génome du malade, et chacun de ses parents doit porter une de ces mutations, tout en étant asymptomatique du point de vue clinique et hématologique. Pourtant, plusieurs études ont montré que les parents d'enfants malades présentaient les formes sauvages du gène ANK1, indication claire qu'il s'agit de mutations *de novo*, qui seront transmises de façon dominante à leurs descendants. Miraglia del Giudice et al [23, 85], trouvent que 63% des enfants ayant une SH à transmission apparemment récessive présentaient en réalité une mutation de novo. C'est la raison pour laquelle ces mêmes auteurs proposaient que les cas de la SH qui, jusqu'à maintenant, étaient considérés comme de transmission récessive soient a priori le résultat d'une mutation de novo [23].

### 3.2.3. Déficit en protéine bande 3 :

La majorité de ces anomalies a été identifiée chez des patients souffrant de la SH, les autres étant impliquées dans l'apparition d'ovalocytose d'Asie du Sud-Est [23].

#### A. Les mutations sphérogènes :

Elles ont comme résultat le déficit en protéine bande 3 et ont été identifiées chez 10 à 20% des patients souffrant de la SH et présentant un déficit à peu près égal en protéine 4.2. L'étude d'une grande famille souffrant de cette tare a mis en évidence sa liaison avec des formes mutantes de la protéine bande 3. On peut identifier plusieurs types de mutations :

- § Mutations du domaine cytoplasmatique qui altèrent l'interaction avec la protéine 4.2 et produisent des formes atypiques la SH.
- § Mutations par substitution de certains résidus fortement conservés de la région cytoplasmatique, probablement impliquées dans l'interaction avec l'ankyrine.
- § Mutations ponctuelles par substitution des résidus d'arginine fortement conservés, qui sont associées avec la diminution et même l'absence totale de la protéine bande 3 dans la membrane érythrocytaire [23].

#### B. La mutation elliptogène :

Elle est représentée par la délétion des résidus 400-408, placés à la frontière de la région cytoplasmatique avec le premier segment transmembranaire. La mobilité latérale intramembranaire de cette forme de protéine bande 3 est largement réduite et elle est excessivement phosphorylée. La conformation des segments transmembranaires semble être, elle aussi, modifiée, car sa capacité de transport des anions est réduite et l'interaction avec certains inhibiteurs est altérée. Mais les principales modifications sont une rigidité mécanique accrue de l'érythrocyte et une résistance à la malaria, qui font de cette mutation une forme évolutive, adaptative, plutôt qu'une forme pathologique. Cette mutation, qui est spécifique de

certaines populations de Papouasie-Nouvelle Guinée, semble être en forte relation avec une autre mutation, asymptomatique, Lys 56 --> Glu, dénommée bande 3<sup>MEMPHIS</sup>. Celle-ci représente un polymorphisme largement répandu, 5 à 24% dans pratiquement tous les groupes ethniques. Le tableau clinique d'une SH associée à une diminution de la bande 3 est homogène : hémolyse en général compensée, mode de transmission clairement dominant. La splénectomie souvent nécessaire à l'âge adulte. Les états hétérozygotes composites, voire homozygotes, sont encore peu connus, mais vont de pair avec une gravité accrue, voire létale [23].

#### 3.2.4. Déficit en protéine 4.2 :

Le déficit en protéine 4.2 peut être dû soit à une mutation de la protéine bande 3, soit à une mutation de la protéine 4.2 elle-même. Le tableau clinique et le mode de transmission n'ont pas, à ce jour, été documentés de façon approfondie. Les manifestations cliniques sont homogènes : anémie hémolytique manifeste, débouchant à l'âge adulte sur l'indication d'une splénectomie. C'est une affection rare dans la mesure où seul l'état homozygote est symptomatique. La maladie est parfaitement silencieuse à l'état hétérozygote. Son mode de transmission est donc strictement récessif. Les isolats génétiques favorisent l'apparition d'homozygotes et il n'est pas surprenant que ce type d'anémie hémolytique congénitale ait été observé dans certaines régions confinées : allèles 4.2 Nippon, 4.2 Shiga, 4.2 Komatsu, dans l'Archipel Nippon. Au Japon, la fréquence relativement élevée de l'allèle 4.2 Nippon constitue une « lucarne » permettant de démasquer, chez des hétérozygotes composites, des allèles muets qui, autrement, passeraient inaperçus. L'allèle 4.2 Lisboa a été découvert chez une personne dont les parents ne se savaient pas qu'ils étaient consanguins, mais étaient originaires de la même région, au Portugal. A l'exception de deux formes (protéine 4.2<sup>LISBOA</sup> et protéine 4.2<sup>NOTAME</sup>) qui impliquent soit un changement du cadre de traduction, soit un épissage alternatif d'un intron, il

s'agit de simples mutations ponctuelles de substitution, ce qui indique une très grande susceptibilité de la conformation spatiale de la protéine 4.2 à une séquence correcte en acides aminés (tableau 9). Ces altérations mènent moins à la perte des capacités fonctionnelles d'interaction avec la protéine bande 3, qu'à une susceptibilité accrue à l'attaque des protéases [23].

Tableau 9: Mutations du gène de la protéine 4.2 responsables de la SH

(<http://www.kidscancer.net/membrane/>)

Nom commun	Codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Lisbao	89	265 delG	cadre de lecture 1-nt	Délétion
Fukuoka	119	W119X	non sens	
Nippon	142	A142T	faux sens	
Komatsu	175	D175Y	faux sens	
Notame	250	922+1G>A	cadre de lecture e-	Epissage
Tozeur	310	R310Q	faux sens	
Shiga	317	R317C	faux sens	

#### 4. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE:

La SH se révèle dans 80% des cas par une anémie hémolytique avec la triade cardinale d'hémolyse : pâleur, ictère, et splénomégalie (isolés ou associés). Elle peut rester méconnue et découverte plus tardivement à l'occasion d'une crise de déglobulisation ou d'érythroblastopénie. La survenue de cette crise est due particulièrement à une primo infestation par le parvovirus B19. Il en résulte une inhibition de l'érythropoïèse et donc une perte continue des érythroblastes pendant environ 3 semaines. L'arrêt brutal de la régénération médullaire compensatrice de l'hyperhémolyse chronique a pour conséquence une anémie sévère et récidivante exigeant des transfusions répétées.

Une lithiase biliaire pigmentaire peut être également révélatrice: Il s'agit d'une complication fréquente des anémies hémolytiques constitutionnelles. L'ulcère de la jambe, et l'hématopoïèse extramédullaire se rencontrent peu fréquemment.

Enfin, la maladie peut être diagnostiquée au cours d'une enquête familiale quand il existe une atteinte d'un des parents ou de la fratrie. Ou bien il peut s'agir d'une découverte fortuite à l'occasion d'un bilan biologique [1,2,4,86].

Dans notre étude, les signes d'appel les plus retrouvés sont la pâleur cutanéomuqueuse constatée chez 7 malades (38,9%), suivi de l'ictère cutanéomuqueux chez 5 enfants (27,8%), et du syndrome anémique constaté chez 4 malades (22,2%). La maladie a été découverte dans un cas (5,6%) grâce au dépistage et dans un autre cas (5,6%) suite à une lithiase de la voie biliaire principale. Deux patients ont été référés de l'hôpital Ibn Al Khatib (Fés), un cas (5,6%) pour suspicion de drépanocytose et l'autre (soit 5,6%) pour suspicion de thalassémie.

Selon l'étude de Wafaa Lahcini et al [57], la maladie a été découverte dans 84,6% des cas suite à un ictère cutanéomuqueux, suivi d'une splénomégalie dans 70,8% des cas, puis d'une anémie dans 52,6% des cas. Une complication a été révélatrice dans 5 cas (un patient a présenté des douleurs abdominales, un patient a présenté une crise de frisson, un patient a présenté une hypotonie des membres inférieurs et les membres supérieurs, un patient a présenté une sclérose de la jambe, et un patient a présenté des douleurs osseuses).

Dans l'étude d'Anibran Das et al, la maladie a été découverte dans 51% des cas suite à un ictère cutanéomuqueux, suivi d'une pâleur cutanéomuqueuse dans 6,8% des cas, puis d'une fièvre dans 2,8% des cas. Dix patients ont été diagnostiqués grâce au dépistage. Toutefois, aucune complication n'a été révélatrice de la maladie. Par contre, dans les séries de Capan Konca et al, de Eun Sil Park<sup>1</sup> et al, de Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al, et de Amina Abdel-Salam et al, la lithiase biliaire était la

circonstance de découverte de la maladie respectivement chez 1,4% ; 3,4% ; 7,5% et 7,5% des cas [61,62,64,69,87].

#### 4.1. Au cours de la période néonatale et la première année de vie :

La SH se manifeste dès la première enfance par des symptômes ayant une cinétique asynchrone. L'ictère néonatal est un signe prépondérant et précoce, présent dans la plupart des cas, il débute dès les premières heures de la vie, parfois seulement au 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jour, plus rarement en fin de la première semaine [1,2,23]. L'ictère néonatal possède tous les caractères d'un ictère hémolytique : méconium et selles de couleur normale, urines claires sauf en cas d'hémolyse très intensive (augmentation de l'urobilinurie). Son association à une hyperbilirubinémie libre peut mener à un ictère nucléaire si la photothérapie intense ou l'exanguino transfusion ne sont pas pratiquées [88]. L'existence concomitante de la maladie de Gilbert, en particulier le polymorphisme du promoteur du gène *UTG1A1*, aggrave considérablement l'ictère et multiplierait le risque de survenue de lithiase par quatre [1,89, 90].

Dans notre étude, la proportion des cas ayant développé un ictère néonatal est de 38,9%. En comparaison avec les autres études (tableau 10), la proportion des cas présentant l'ictère néonatal dans notre série est, d'un coté, proche aux proportions avancées par l'étude de Anirban Das et al (30,5%) [61], et de celle de Maria gabriella Mariani et al (33,3%) [91], et d'un autre coté, cette proportion est largement inférieure à celles rapportées par Delhommeau et al (100%) [86], Amina Abdel-Salam, et al (90%) [62], et Sarah C Steward et al (86,6%) [92].

En revanche, l'anémie est rarement présente à la naissance. Environ 10% des nouveaux nés présentent une anémie dès la naissance, ce qui est un facteur pronostique de sévérité [1]. Chez le nouveau-né atteint de la SH, il existe un déséquilibre entre la destruction accrue des GR et la capacité pour la moelle osseuse

à compenser ce phénomène. La destruction accrue des GR liée à la maladie est aggravée par l'hyperhémolyse physiologique. Pendant les premiers mois de vie, la moelle osseuse est peu active et l'érythropoïèse est ralentie. Le taux d'hémoglobine est habituellement normal à la naissance, mais chute brutalement dès le 5<sup>ème</sup> jour de vie, ce qui peut nécessiter le recours aux transfusions des GR [93,2]. Vers l'âge de un an, l'hémolyse chronique est généralement bien compensée, ce qui explique la diminution du besoin transfusionnel [86].

La splénomégalie est absente à la naissance, et apparaît entre 1 et 45 semaines de vie, en moyenne vers la 5<sup>ème</sup> semaine. Quelques formes sont expressives in utero avec une anémie sévère et anasarque fœtale. Il s'agit d'enfants atteints soit d'un déficit homozygote pour la protéine bande 3, soit de formes récessives pour un déficit de la chaîne alpha spectrine [22].

Dans notre série, 15 cas soit 83,3% ont un antécédent d'anémie, parmi eux, 2 cas (13,3%) ont une anémie à la naissance. Ce résultat est proche de celui avancé par O. Delhommeau et al (10%), mais, Silverio Perrotta et al ont rapportés un taux d'anémie à la naissance de 28 à 34%. Cette anémie a nécessité la transfusion chez 55,6% des patients de notre série, et dans 55 à 76% des cas dans les séries rapportées dans la littérature (tableau 11) [61,62, 86, 92].

Tableau 10 : Ictère néonatal dans différentes séries

Auteurs/années	Ictère néonatal (%)	Photothérapie (%)	Exanguino -transfusion (%)
Amina Abdelsalam et al. [62]	90	25	5,6
Anirban Das et al. [61]	30,5	-	4
Delhommeau et al. [86]	100	79,4	8,8
Maria gabriella Mariani et al. [91]	33,3	-	17
Sarah C Steward et al. [92]	86,6	-	-
Adlette Inati et al. [71]	25	-	-
<b>Notre étude</b>	<b>38,9</b>	<b>14,3</b>	<b>0</b>

Tableau 11 : Nombre des cas ayant un antécédent de transfusions dans différentes séries.

Etudes	Nombre des cas ayant un antécédent de transfusions
Amina Aabdel Salam et al. [62]	62,5 %
Anirban Das et al. [61]	55%
Delhommeau et al. [86]	76%
Sarah C Steward et al. [92]	73,33%
<b>Notre étude</b>	<b>55,6%</b>

#### 4.2. Chez l'enfant de plus de un an et l'adulte jeune :

La SH se traduit classiquement par la pâleur, l'ictère ou le subictère, et la splénomégalie selon des combinaisons variables. La maladie peut être découverte par un retard de la maturation sexuelle et un infléchissement staturo-pondéral. Les formes frustes ou bien compensées peuvent être décelées à tout âge par un bilan biologique systématique ou lors d'un dépistage, le diagnostic est difficile à poser en l'absence d'histoire familiale et des signes cliniques évidents, la maladie se dévoile tardivement suite à une série de complications : un épisode de déglobulisation aigue liée à une hyperdestruction périphérique des hématies, ou à une érythroblastopénie aigue entraînant l'accentuation brutale de l'anémie parfois profonde et arégénérative [94]. Du fait de l'urgence à transfuser, les tests de confirmation ne pouvant pas souvent être réalisés en première intention. Le diagnostic est alors différé de plusieurs mois. La lithiase vésiculaire permet également d'évoquer le diagnostic [2]. Elle survient fréquemment chez les enfants entre l'âge de 3 et 14 ans [95]. L'hématopoïèse extramédullaire et l'ulcère de jambe sont rarement rapportés chez les enfants et les adolescents atteints de la SH [2].

## 5. MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE:

### 5.1. L'ictère :

C'est un signe précoce et dominant, le malade est plus jaune qu'anémique, il ne s'accompagne d'aucun signe de rétention biliaire. Son intensité est variable et peut manquer par moment. Il peut être inapparent malgré une biologie d'hyperhémolyse. Il est responsable d'une légère pigmentation de la peau, qui peut se résumer à un subictère conjonctival. L'ictère, intermittent est majoré par des exacerbations, il s'intensifie lors de crise de déglobulisation, d'une infection intercurrente, de froid, d'un choc émotionnel ou lors d'une grossesse. Seule la bilirubine non conjuguée (libre) est augmentée. L'hyperbilirubinémie induit une urobilinurie et une augmentation du stercobilinogène fécal. Elle risque de s'accumuler dans la vésicule biliaire et de former des calculs. L'hémolyse est intratissulaire et se fait préférentiellement au niveau de la rate mais il existe une faible part d'hémolyse intravasculaire entraînant une légère augmentation de l'hémoglobine et donc une diminution de la concentration en haptoglobine [1, 4, 86,96,97].

L'ictère est noté dans notre étude chez 7 patients, soit 38,98% des cas. Cette proportion est presque égale à celle rapportée par Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (38%). Dans notre travail, l'ictère cutanéomuqueux représente le 3ème symptôme après la pâleur cutanéomuqueuse et la splénomégalie. De même pour les études d'Anirbans Das et al et Amina Abdel-Salam et al [61,62,64].

## 5.2. Syndrome anémique :

### ▼ La pâleur :

L'anémie est caractérisée cliniquement par une pâleur cutanéomuqueuse. Cela est flagrant sur le visage, la paume des mains et le lit unguéal. Dans la majorité des cas l'anémie est discrète à cause de l'hyperactivité médullaire qui compense plus ou moins l'hémolyse [98].

Les signes cliniques observés, en dehors de la pâleur des muqueuses, sont nombreux et variés. Certains d'entre eux sont directement liés au processus pathogénique de l'anémie. D'autres sont la conséquence directe de l'anémie et peuvent être d'intensité variable en fonction de l'évolution aiguë ou chronique de la maladie. Le tableau clinique dépend des mécanismes compensateurs mis en place par l'organisme. Pour lutter contre l'hypoxie tissulaire, la fréquence cardiaque et respiratoire augmente afin d'augmenter la perfusion des zones périphériques et de compenser la faible quantité d'oxygène apportée à chaque pulsation. Le myocarde supporte bien cette suractivité pendant une période relativement longue, et la pression artérielle n'augmente pas du fait de la baisse de viscosité sanguine et de la vasodilatation périphérique possible. Cliniquement, la fréquence cardiaque, le choc précordial

et le pouls peuvent augmenter, tandis que la baisse de viscosité peut se traduire par un souffle dit anémique. Cependant, après une évolution prolongée, une cardiomégalie, une congestion pulmonaire, une ascite et des œdèmes peuvent survenir et traduire une insuffisance cardiaque. L'hypoxie consécutive à l'anémie peut également induire une fatigabilité, des syncopes et des intolérances à l'effort, des céphalées, des migraines, des vertiges, des bourdonnements d'oreille. D'autres symptômes peuvent parfois être imputable à l'anémie, tels l'anorexie, l'arrêt des règles, des métrorragies et la modification de l'aspect des phanères à savoir ; ongles

plats et striés ou koilonychie. Cheveux et cassants et l'aspect de la langue ; dépapillé sur les bords ou glossite. Ces signes peuvent se voir même dans les formes bien tolérées [98,99].

Dans notre étude, la pâleur cutanéomuqueuse est notée chez 16 patients, soit 88,9% des cas, ce résultat rejoint ceux avancés par Adlette Inati et al (86,1%), Amina Abdel Salam et al (90%) et Anirban Das et al (100%), où la pâleur cutanéomuqueuse était le premier symptôme dominant de la SH. Cependant, la pâleur cutanéomuqueuse représente le deuxième symptôme par ordre de fréquence dans l'étude d'Eun Sil Park<sup>1</sup> et al (39,8%) après l'ictère (tableau 12) [61,62,71,87].

### 5.3. La splénomégalie :

La fragilité accrue des sphérocytes se traduit par une destruction prématurée dans la rate, qui par ailleurs est fréquemment hypertrophiée. La rate est donc le siège préférentiel de l'hémolyse. 70% des sujets atteints de la SH présentent une splénomégalie lisse, mobile à la respiration ferme, non douloureuse à la palpation. Elle n'est génératrice d'aucune complication. Mais quand le volume est trop important, elle peut se manifester par une sensation de pesanteur de l'hypochondre gauche ou par un accès de spléinalgie. En général, la splénomégalie est tout juste palpable mais peut prendre des dimensions considérables jusqu'à atteindre l'ombilic ou la crête iliaque [100].

La splénomégalie varie en taille avec les poussées ictéro-anémiques en particuliers au cours d'une crise de déglobulisation. Selon Bertil, il n'y a pas de corrélation entre la taille de la rate et la sévérité de la maladie [101]. Beaucoup plus rare, l'hépatomégalie est de volume modéré. Une hépatomégalie importante pourrait faire suspecter une complication ou une erreur de diagnostic.

Dans notre série, la splénomégalie constitue le 2ème symptôme dominant après la pâleur cutanéomuqueuse avec une fréquence de 66,7%. Ces résultats concordent

avec ceux rapportés dans la série d'Adlette Inati et al (69,4%), Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (69,8%) ainsi que dans la série de Capan Konca et al (72,1%) où la splénomégalie est le 2ème symptôme par ordre de fréquence (tableau 12) [64,69,71].

Quant à la présence de l'hépatomégalie, aucun malade de notre étude n'a présenté une hépatomégalie à l'examen clinique. De même, l'étude faite au CHU à Rabat n'a pas dévoilé la présence d'hépatomégalie. Par contre, les études d'Anirban Das et al, Amina Abdel Salam et al, Hee Jong Choi et al, Eun Sil Park et al. Les proportions de l'hépatomégalie sont respectivement égales à 73%, 45%, 27,3% et 13,5% (tableau 12) [57,62,63,87].

#### 5.4. Manifestations diverses :

Certaines malformations peuvent être visualisées tardivement chez les patients atteints de la SH à savoir :

- Une tubulopathie proximale avec défaut d'acidification fréquemment liée aux déficits homozygotes en bande 3 [1]. En Inde, une étude récente de Rajiv Sinha et al a signalé le premier cas d'un jumeau (frère et sœur) présentant la SH et une acidose tubulaire rénale distale. Le gène codant pour AE1 (SLC4A1) a été analysé, et une mutation c2573a été trouvée, ce qui a entraîné la substitution de l'alanine par l'acide aspartique (Ala858Asp). Tous les patients étaient homozygotes pour cette substitution tandis que leurs parents étaient hétérozygotes pour la même mutation [102].

- Les dysmorphies crânio-faciales apparaissent dès la 2ème année et sont plus nettes après 5 ans. La proéminence des os du crâne lui donne un aspect turriforme. Une hypertrophie des os maxillaires et maxillaires supérieurs se traduisent par un front large avec saillie des bosses frontales, des pommettes hautes et saillantes et un hypertélorisme avec parfois un épicanthus. Quand l'hémolyse est importante, on

observe des anomalies dentaires: coloration anormale de l'émail (rose, brun, jaune) et des anomalies de l'occlusion dentaire (environ 5% des cas selon IZRAËL) [103,104].

Dans notre série, La dysmorphie cranio-faciale est présente dans 5,6% des cas, également rapporté dans la littérature dans 5% des cas (tableau 12) [104].

Le retard de croissance est retrouvé chez deux patients, soit 11,1% des cas. Selon Capan Konca et al [69], le retard de croissance est présent dans 14,7% des cas.

-Les adénopathies constituent un symptôme assez exceptionnel, la survenue d'épistaxis répétée chez les enfants a été également signalée.

Tableau 12: Manifestations cliniques de la SH dans différentes séries.

Etudes	Ictère (%)	Pâleur (%)	Splénomégalie (%)	Hépatomégalie (%)	Autres
Anirban Das et al [61].	67	100	96	73	2,8% de dysmorphie cranio-faciale
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64].	38	-	69,8	-	-
Capan Konca et al [69].	48,5	-	72,1	-	14,7% de retard de croissance
Amina Abdel-Salam et al [62].	85	90	87,5	45	-
Hee Joung Choiet al [63].	-	-	100	27,3	-
Olafur Jensson et al [60].	100	-	50	-	-
Adlette Inati et al [71].	-	86,1	69,4	-	-
Eun Sil Park1et al [87].	45,7	39,8	27,1	13,5	-
Notre étude	38,9	88,9	66,7	0	5,9% de dysmorphie crânio-faciale

## 6. METHODES DE DIAGNOSTIC :

Le diagnostic de la SH est en général aisé lorsqu'il existe des antécédents familiaux, des signes cliniques évidents (pâleur, ictère, splénomégalie) et des examens biologiques simples sans ambiguïté révélant une anémie régénérative avec des signes d'hémolyse, une élévation de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), la présence de sphérocytes sur le frottis sanguin et la diminution de la résistance osmotique. Le diagnostic peut être plus difficile en l'absence d'histoire familiale (25% des cas), lorsque la résistance osmotique est normale (34% des cas), ou encore, quand une anémie sévère suite à une érythroblastopénie aiguë liée à une infection au parvovirus B19 révèle la maladie, ou lorsqu'une carence empêche la régénération [1,96]. Le diagnostic de la SH peut être fait à tout âge y compris la période néonatale, dès le jour de la naissance sur le sang du cordon à condition de comparer les résultats à des valeurs normales de nouveau-nés sains [1,96].

### 6.1. Examens de première intension :

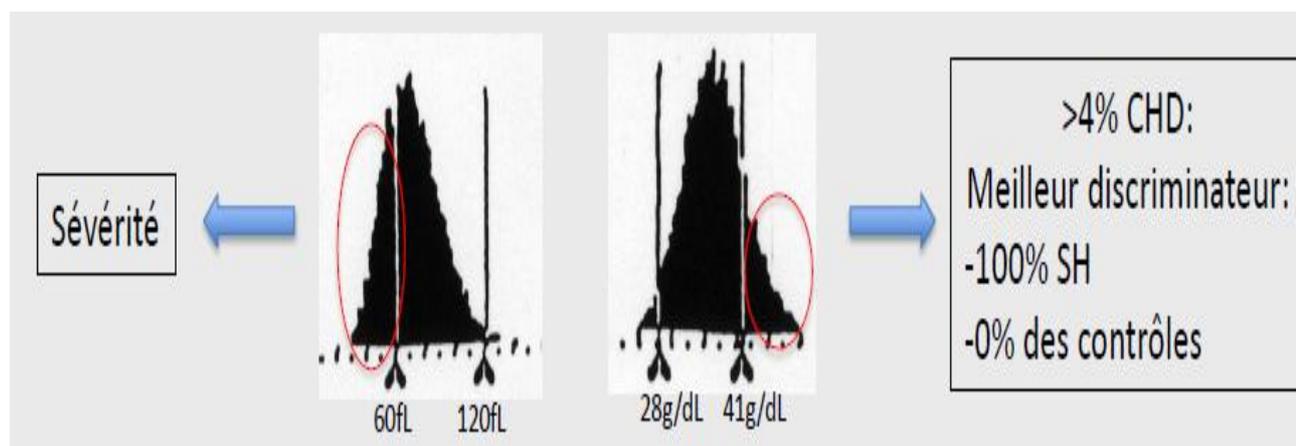
#### 6.1.1. Hémogramme et indices érythrocytaires :

Le diagnostic de la SH est essentiellement biologique. Il repose sur la constatation d'une anémie hémolytique modérée qui peut manquer ou être discrète en cas d'hémolyse compensée. La réticulocytose est effondrée et l'anémie peut être très profonde si une érythroblastopénie virale est révélatrice de la maladie. L'étude des indices érythrocytaires fournis par certains automates actuels donne une 1<sup>re</sup> approche diagnostique qui peut se résumer ainsi :

- Le volume globulaire moyen (VGM) est souvent dans les fourchettes normales, parfois nettement diminué. La courbe de distribution des volumes est étalée, reflétant l'anisocytose. La partie de la courbe décalée vers la gauche

correspond aux microsphérocytes tandis que la partie macrocytaire correspond à la présence de réticulocytes. Ni le VGM, ni le pourcentage de cellules microcytaires n'ont de valeur diagnostique. Par contre le pourcentage de microcytes est corrélé à un score de gravité de la maladie [1,105].

- La CCMH calculée est élevée, supérieure à 35 g/dl, chez plus de la moitié des patients atteints de la SH. La CCMH présente une bonne spécificité mais une pauvre sensibilité. La combinaison d'une CCMH > 35 g/dl et d'un indice de distribution érythrocytaire > 14% permet de diagnostiquer une SH probable avec une sensibilité de 63% et une spécificité de 100% [106].
- La diminution du volume réticulocytaire (VGMr) en dessous de 100 fL (valeur normale chez l'adulte :  $111,17 \pm 6,37$  fL), est d'un grand apport diagnostique. A l'inverse, un VGMr élevé (> 115 fL) est un argument contre le diagnostic de la SH [105].
- Le plus précieux en ce qui concerne la sphérocytose est l'existence d'un pourcentage anormalement élevé de cellules hyperdenses, témoin de la déshydratation cellulaire (Valeur normale < 4%) (figure 11). Ce signe, donné par certains automates, constitue un bon critère de dépistage des malades. Il s'associe à la constatation sur l'histogramme des concentrations d'un débord vers la zone des cellules denses. Cependant un pourcentage anormalement élevé de cellules hyperdenses n'est pas spécifique de la SH et peut être retrouvé dans certaines hémoglobinopathies (Hb ss, Hb cc), dans la xérocytose et dans les anémies hémolytiques auto-immunes. Le pourcentage de cellules hyperdenses n'est pas corrélé à l'expression clinique de la maladie [105].



**Figure 11** : Histogramme des distributions des volumes et des concentrations en hémoglobine

CHD : déshydratation cellulaire ; SH : sphérocytose héréditaire [105].

Par ailleurs, le nombre des plaquettes est en règle normal. Par contre on a décrit dans une série de 35 malades des anomalies fonctionnelles plaquettaires chez la moitié des patients à type de trouble d'agrégation plaquettaire au collagène. Ces anomalies de fonctions des plaquettes non modifiées par la splénectomie suggèrent qu'une tare constitutionnelle de la membrane des plaquettes analogue à celle de la membrane du GR pourrait être en cause. Le nombre des leucocytes est normal ou légèrement augmenté. L'hémogramme peut montrer, en cas d'hyperhémolyse, une leucopénie, qui fait place à l'hyperleucocytose neutrophile pendant les phases de régénérations [107].

Dans notre étude, 14 soit 82,4% des cas ont présenté une anémie à l'admission. Ce résultat se rapproche de celui rapporté par Capan Konca et al (86,7%) [69]. Dans les séries de Maria Christina Lopes Araujo et Oliveira et al et d'Adlette Inati et al, les proportions des patients ayant l'anémie sont respectivement égales à 63,5% et 66,7% [64,71].

Dans notre série, le taux d'Hb oscillait de 4,8 et 12 g/dl avec une valeur moyenne égale à 8,5 g/dl. Notre résultat concorde avec ceux d'Adlette Inati et al (8,7g/dl), et de Wafaa Lahcini et al (7,99g/dl) (tableau 13) [57,71].

**Tableau 13** : Répartition du taux moyen de l'Hb dans différentes séries.

Auteurs	Valeur moyenne Hb (g/dl)	Ecart-type (g/dl)	Extremes (g/dl)
Capan Konca et al [69].	10,2	2,1	-
Anirban Das et al [61].	7,6	2,4	2,8 - 12,5
Amina Abdel-salam et al [62].	6,8	0,4	3,0 - 11,0
MT koh et al [58].	7,6	2,6	1,7 - 10,7
Olafur Jensson et al [60].	6,9	3	4,3 - 11
Wafaa Lahcini et al [57].	7,99	-	2,9 - 14,6
Eun Sil Park et al [87].	9,16	2,8	-
Hee Joung Choi et al [63].	9,5	-	7,9 - 11,1
Adlette Inati et al [71].	8,7	2,2	-
<b>Notre étude</b>	<b>8,5</b>	<b>2,1</b>	<b>4,8 - 12</b>

Le taux moyen du volume globulaire noté dans notre étude est de  $81,2 \mu^3$ , ce résultat rejoint ceux retrouvés dans la série d'Anirban Das et al ( $81,6 \mu^3$ ) et d'Eun Sil Park et al ( $81,8 \mu^3$ ) (tableau 14) [61,87].

Dans notre série, l'anémie est normocytaire chez 7 patients, soit 50% des cas, microcytaire chez 5 patients, soit 35,7% des cas, et macrocytaire chez 2 patients, soit 14,3%, des cas. Selon l'étude menée au CHU de Rabat, l'anémie normocytaire est la plus fréquentee (60% des cas), tandis que 28% des cas ont une anémie macrocytaire et 12% des cas ont une anémie microcytaire [57]

**Tableau 14** : Répartition de valeur moyenne de globules dans différentes études

Auteurs	Valeur moyenne VGM ( $\mu^3$ )	Ecart-type ( $\mu^3$ )	Extremes ( $\mu^3$ )
Capan Konca et al [69].	73,6	15,5	-
Anirban Das et al [61].	81,6	7,4	70,1 - 93,9
EUN Sil Park et al [87].	81,8	11,6	-
Adlette Inati et al [71].	75,3	11,1	-
<b>Notre étude</b>	<b>81,2</b>	<b>10,9</b>	<b>68 - 108</b>

La valeur moyenne de la CCMH dans notre série est égale à 33,3%. Elle est proche de celles décrites par Capan Konca et al, Adlette Inati et al, Sarah C Steward et al, et d'Anirban Das et al (tableau 15) [61,69,71,92]. Dans notre série, 10 patients, soit 71,4% des cas, ont une anémie normochrome, alors que 4 patients, soit 28,6%, ont une anémie hypochrome. Selon l'étude réalisée au CHU Rabat, l'anémie est normochrome chez 100 % des cas [57].

Tableau 15: Répartition de la CCMH dans différentes séries.

Auteurs	Valeur moyenne CCMH (%)	Ecart type (%)
Anirban Das et al [61].	35,9	4,7
Capan Konca et al [69].	31,9	2,6
Sarah C Steward et al [92].	35,9	-
Adlette Inati et al [71].	35,3	2
<b>Notre étude</b>	<b>33,3</b>	<b>-</b>

Dans notre série, le taux de réticulocytes varie entre 0,3 et 18,3% avec une moyenne égale à 7,8%. Ce résultat est proche de celui de Sarah C Steward et al où la valeur moyenne est de l'ordre de 8,23% (tableau 16) [92]. Il convient de noter que dans notre étude, 18,2% des cas ont une anémie arégénérative alors que 81,8% des patients ont une anémie régénérative. Ce résultat est similaire avec celui retrouvé dans l'étude d'O1afur Jensson et al [60]. Trois enfants sur 4, soit 75% des cas, ont une anémie régénérative. Dans la série de MT Koh et al [58], 9 enfants sur 10, soit 90% des cas, ont une anémie régénérative, et seulement 10% des cas ont une anémie arégénérative.

Au total, la SH se manifeste fréquemment par une anémie normochrome normocytaire régénérative ce qui rejoint les données de la littérature.

**Tableau 16** : Répartition de la valeur moyenne de réticulocytes dans différentes séries.

Auteurs	Valeur moyenne des réticulocytes	Extrêmes
Capan Konca et al [69].	6,4 ± 4,8%	-
Anirban Das et al [61].	12,6 +/- 10,3%	1- 50%
Hee CHung et al [63].	11,9%	6- 25,4%
MT.Koh et al [58].	15,56%	0,1- 33%
Adlette Inati et al [71].	6,8%	-
Olafur Jensson et al [60].	10,25%	1- 17%
Sarah C Steward et al [92].	8,23%	2,4- 18,6%
<b>Notre étude</b>	<b>7,8 +/- 6,1%</b>	<b>0,3- 18,3%</b>

### 6.1.2. Morphologie des GR:

L'étude du frottis sanguin reste d'un grand intérêt. Il montre des sphérocytes avec un pourcentage variable d'un sujet à l'autre, et de façon non exceptionnelle chez un même sujet d'une période à l'autre. Les sphérocytes sont des hématies denses, arrondies de petits diamètres (6 à 7 microns), ayant perdu leur halo clair central (l'épaisseur corpusculaire est de 3,5 à 4 micromoles selon Boivin) (figure 12) [48]. Leur présence est quasi-constante dans les formes sévères et inconstante dans les formes minimales. Une polychromasie secondaire à une forte réticulocytose peut masquer les sphérocytes [1,2].

Une corrélation entre certaines formes anormales des érythrocytes et les altérations moléculaires causales a été récemment prouvée. Dans certains cas, en particulier dans les déficits en bêtaspectrine ou après la splénectomie, les sphérocytes sont associées à des acanthocytes ou à des sphéro-acanthocytes (figure 13) [1,2,83]. Tandis que dans les formes avec spectrine bêta tronquée, on peut observer des elliptocytes sphérocytaires. Lorsque l'anomalie est un déficit en protéine bande 3, certaines hématies peuvent présenter un bourgeonnement, avec étranglement, à un

pole de la cellule évoquant un aspect en « champignon » ou en pièce du puzzle spécifique de cette variété de la SH (figure 14) [1,2,108].

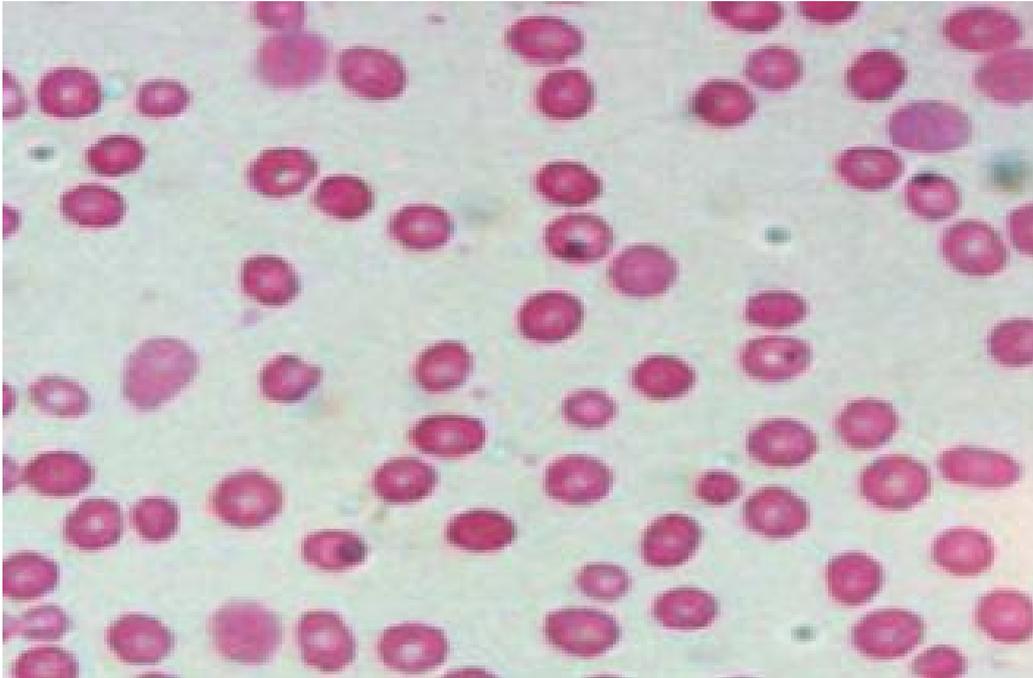


Figure 12: Frottis sanguin montrant la présence de sphérocytes [109].

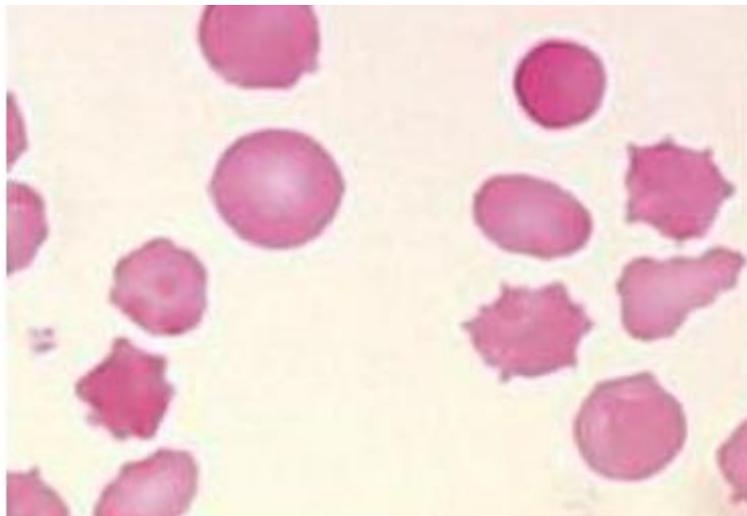
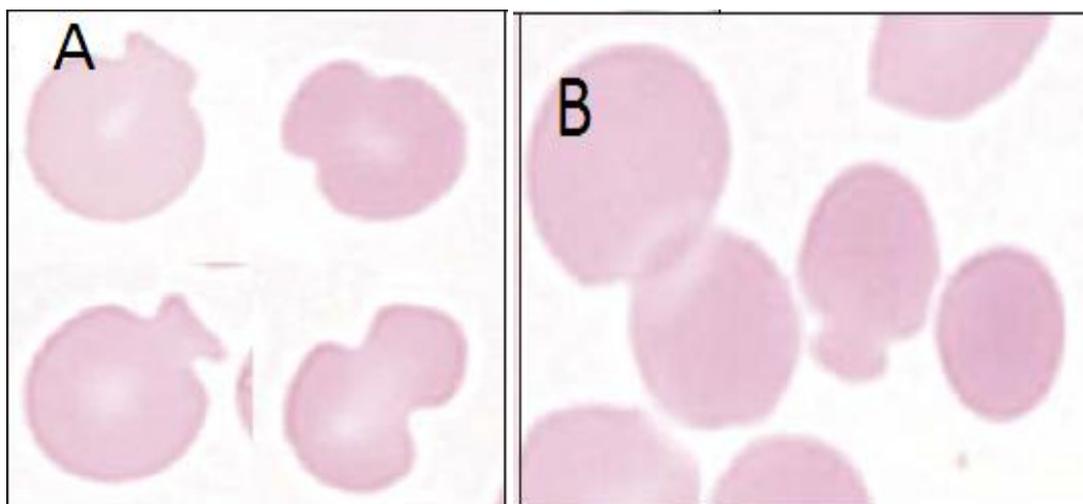


Figure 13 : Frottis sanguin montrant l'association des sphérocytes et d'acanthocytes [2].



**Figure 14** : Frottis sanguin montrant : A) : sphérocytes en « champignon ». B) : association hématie « champignons » et sphérocytes [110].

Parfois, dans le déficit en protéine 4.2 on verra des sphérostomatocytes un peu ovalaires. Dans les déficits en ankyrine, seuls les sphérocytes sont observés sur le frottis. Les corps de Howell Jolly sont absents au diagnostic, mais constants après splénectomie totale (dans les splénectomies subtotaux, ils peuvent être absents). Des érythroblastes circulants sont rares, sauf dans les formes sévères [108,111].

Les sphérocytes ne sont pas spécifiques de la SH, elles peuvent se rencontrer également dans d'autres désordres hémolytiques : incompatibilité ABO, infection néonatale ou anémie hémolytique auto-immunes à auto-anticorps chauds (IgG) ou froids (IgM). Certains contextes particuliers montrent également des sphérocytes : microangiopathies thrombotiques, brûlures sévères, septicémie à *Clostridium*, quelques morsures de serpents et d'insectes (venins hémolytiques), diverses réactions transfusionnelles retardées [4,108].

#### Tares avec sphérocytes sur frottis de sang périphérique [4]:

- Sphérocytose Héritaire
- Anémie hémolytique auto-immune
- Lésion aigue de l'oxydant

- Anémies hémolytiques microangiopathiques et macroangiopathiques
- Réactions transfusionnelles
- Blessures thermiques
- Maladie hépatique
- Anémies du corps de Heinz
- Pyropoikilocytose Héritaire
- Sepsis clostridienne
- Toxicité à Zinc
- Morsure de serpents, d'araignées, et *hyménoptères* venins
- Hypophosphatémie sévère
- Une longue conservation du sang
- Incompatibilité ABO (nouveau-nés)
- Hypersplénisme.

Le diagnostic est très difficile en période néo-natale car des sphérocytes sont retrouvés de manière physiologique chez tous les nouveaux nés. La recherche d'anomalie supplémentaire peut aider le cytologiste, qui ne doit pas se contenter d'un examen rapide pour évoquer le diagnostic. Dans notre série, 13 patients ont bénéficié d'un frottis sanguin. Cet examen a objectivé une présence de sphérocytoses dans 8 cas (soit 61,5%), une microcytose hypochrome dans 4 cas (soit 30,8%), une anisocytose dans 3 cas (soit 23,1%), une anisochromie dans 2 cas (soit 15,4%) et une poikilocytose également trouvée dans deux cas (soit 15,4%). Dans l'étude menée au CHU de Rabat [57], sur le frottis sanguin, la sphérocytose est mise en évidence chez la totalité des enfants. Une schizocytose dans 16,7% des cas. Une poikilocytose dans 10% des cas, une polychromatose dans 6,7% (2/30) et une microcytose également trouvée dans 6,7%. Une éliptocytose dans 3,3% des cas enfin une dacryocytose dans 3,3% des cas.

L'examen du frottis est la première étape, les avancées des connaissances et la complexité croissante des moyens diagnostiques ne doivent pas en faire oublier l'apport capital. Cet examen montre la présence de sphérocytes en pourcentage très variable d'un malade à un autre [48]. Le tableau (17) regroupe la proportion de sphérocytes dans différentes séries. Cette proportion sur le frottis sanguin relative à notre série est égale à 61,5%.

**Tableau 17 :** Pourcentage des sphérocytes dans les frottis sanguin dans différentes études.

Auteurs	Pourcentage des sphérocytes au frottis sanguin
Capan Konca et al [69].	82,3% (56 cas)
Amina Abdel-Salem et al [62].	82,5% (33 cas)
Olafur Jensson et al [60].	100% (7 cas)
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64]	45% (23 cas)
Adlette Inati et al [71].	100% (24 cas)
<b>Notre étude</b>	<b>61,5% (8 cas)</b>

### 6.1.3. Signes biologiques d'hémolyse :

Le bilan biochimique se fonde essentiellement sur les signes d'hémolyse, c'est-à-dire une augmentation de la bilirubine « non conjuguée» ou à prédominance libre associée à un effondrement de l'haptoglobine et une hausse des LDH. La glycuconjugaison hépatique est maximale d'où une augmentation du stercobilinogène fécal et de l'urobiline.

Avant d'orienter le diagnostic vers celui de la SH et d'entamer des explorations spécialisées, les autres causes d'anémie hémolytique doivent être éliminées, en particulier les anémies hémolytiques. Le test de Coombs direct est alors discriminant, sa réaction, à la recherche d'auto-anticorps est négative [111].

Dans notre travail, la bilirubine est à prédominance libre, avec une valeur moyenne de 4,4 mg/dl et des extrêmes de 0,7 et 15,0 mg/dl. Elle est augmentée chez 63,6% des cas. Le taux moyen de la bilirubine libre est presque similaire à celui retrouvé dans une étude faite au CHU de Rabat (4,4 mg/dl) [57], mais supérieure à celles retrouvées dans les séries de Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (1,9 mg/dl) [64], de Capan Konca et al (2,3mg/dl) [69], d'Olafur Jensson et al (2,5 mg/dl) [60] et de Hee chung choi et al (2,6 mg/dl) [63].

Dans notre série, le taux de la LDH varie de 335 à 600 UI/L, de moyenne égale à 469 UI/L. Trois cas sur 5 (60%) ont un taux de LDH élevé, tandis que 2 cas (40%) ont une LDH normale. La valeur moyenne de LDH est inférieure à celle avancée par Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (667 UI) et par Eun Sil Park et al (583 UI). Par contre elle est supérieure à celle retrouvée dans la série d'Adlette Inati, et al (359,1 UI) [64,71,87].

Dans notre étude, l'haptoglobine oscillait de 0,1 à 0,5 g/l, de moyenne égale à 0,3 g/l. Parmi ces cas, 2 patients soit 66,7% des cas, ont une haptoglobine effondrée tandis qu'un seul cas, soit 33,3% des cas, a une haptoglobine normale. Le taux moyen de l'haptoglobine est proche de celui avancé par Eun Sil Park et al qui est égal à 0,2 g/l [87].

#### 6.1.4. Le myélogramme

Cet examen n'a pas d'intérêt pour le diagnostic de la maladie. Il n'est réalisé qu'en cas de suspicion de crise aplasique [111].

Les critères diagnostiques simples permettant d'évoquer le diagnostic de SH sont regroupés dans le tableau (18) :

Tableau 18: Critères diagnostiques simples permettant d'évoquer le diagnostic de SH [1].

Paramètres cliniques	Pâleur, splénomégalie, ictère inconstants
Paramètres biologiques et indices érythrocytaires	↓ Hb, ↑ CCMH, ↑ % cellules hyperdenses, ↑ réticulocytes, ↓ VGMr
Frottis sanguin	Sphérocytes (peuvent être absents)
Test de Coombs érythrocytaire	Négatif

Hb : Hémoglobine, CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, VCMr : Volume réticulocytaire.

#### 6.2. Examens spécifiques :

Les tests de la fragilité osmotique mettant en évidence la diminution du rapport S/V des GR. Ces tests sont peu coûteux et réalisables par tous les laboratoires. Ils doivent être réalisés sur des GR les plus frais possibles, gardés à +4°C si l'examen doit être différé de quelques heures. On testera, en parallèle, les GR d'un témoin prélevés dans les mêmes conditions. On y retrouve les tests suivants [1] :

### 6.2.1. Etude de la fragilité osmotique des hématies :

#### A. Test de la résistance globulaire:

Ce test découvert par Chauffard a été longtemps le test de référence pour le diagnostic de la SH, bien que sa spécificité et sa sensibilité soit faible, il repose sur la diminution du rapport surface/volume (S/V) des GR. Lorsque ce rapport est diminué, le volume critique d'hémolyse est atteint plus rapidement avec des solutions d'osmolarité plus élevée et donc la résistance aux solutions hypotoniques est diminuée [1]. Ce test consiste à mettre des GR dans des solutions salées de tonicité croissante, il se produit alors une entrée d'eau en intracellulaire. Cette hydratation va étirer la membrane au maximum de ses capacités [2]. Il y aura une hémolyse initiale pour des concentrations osmolaires plus élevées par rapport au témoin (figure 14). L'échantillon sanguin du sujet présumé porteur de la SH est testé en même temps que celui d'un témoin. Les concentrations en sodium des solutions salines utilisées varient de 0,1 à 0,9 g/l. Après avoir mis les échantillons en suspension dans des solutions d'osmolarité décroissante, et après la centrifugation et 30 mn d'incubation à 20°C, on mesure le pourcentage d'hémoglobine en solution par la densité optique à 540 nanomètres du surnageant. De nombreuses variances techniques existent portant soit sur la préparation des solutions de NaCl, soit sur l'appréciation de l'hémolyse. Les résultats sont exprimés [4]:

- En concentration saline pour laquelle l'hémolyse a commencé « hémolyse initiale ». Pour un sujet sain, la valeur normale est de 5%.
- En concentration saline pour laquelle l'hémolyse est complète « hémolyse totale ». Pour un sujet sain, la valeur normale est de 3%.

Un autre mode d'expression des résultats obtenus consiste à tracer la courbe d'hémolyse en fonction des concentrations salines. On se réfère aux concentrations responsables d'une hémolyse à 10%, 50% et 90%. On compare aux valeurs du témoin.

L'hémolyse à 50% se produira pour des solutions plus concentrées, on observera donc une déviation vers la droite de la courbe du patient par rapport à courbe témoin. Par ailleurs, il existe une corrélation entre la sévérité des manifestations cliniques et l'augmentation de la fragilité osmotique [112]. Dans certains cas, la fragilité osmotique normale ne permet cependant pas d'éliminer une SH: 34% des patients non splénectomisés n'ont pas de fragilité osmotique augmentée [2,105], en particulier ceux présentant des formes légères à modérées de la maladie. La découverte d'une fragilité osmotique normale chez un nombre significatif de patients atteints de la SH peut s'expliquer par la déshydratation cellulaire. En effet, la fragilité osmotique dépend non seulement de la surface cellulaire mais aussi de son volume. Ainsi, une diminution du volume peut compenser la perte de surface membranaire aboutissant à un rapport S/V normal et donc une fragilité osmotique normale [2,105]. La diminution de la résistance globulaire est non pathognomonique de la maladie car elle s'observe dans d'autres causes d'hémolyse et chez les patients atteints d'elliptocytose héréditaire. Ce test peut être négatif ou douteux dans 20 à 30% des cas. Notamment chez les patients atteints de formes bénignes de la SH et chez le nouveau né présentant des GR osmotiquement plus résistants que celle de l'adulte. Le test peut être sensibilisé en le répétant après 24 heures d'incubation à 37°C, les GR continuent à métaboliser du glucose pour produire l'énergie nécessaire au maintien de leur morphologie. Ces conditions sont moins bien supportées par les sphérocytes (baisse plus rapide de leur surface, augmentation plus rapide de leur volume par hydratation cellulaire). La méthode d'étude de la fragilité osmotique après incubation est la même que celle décrite précédemment (les conditions d'asepsie rigoureuse sont importantes car la contamination bactérienne augmente la lyse) [105,111,113]

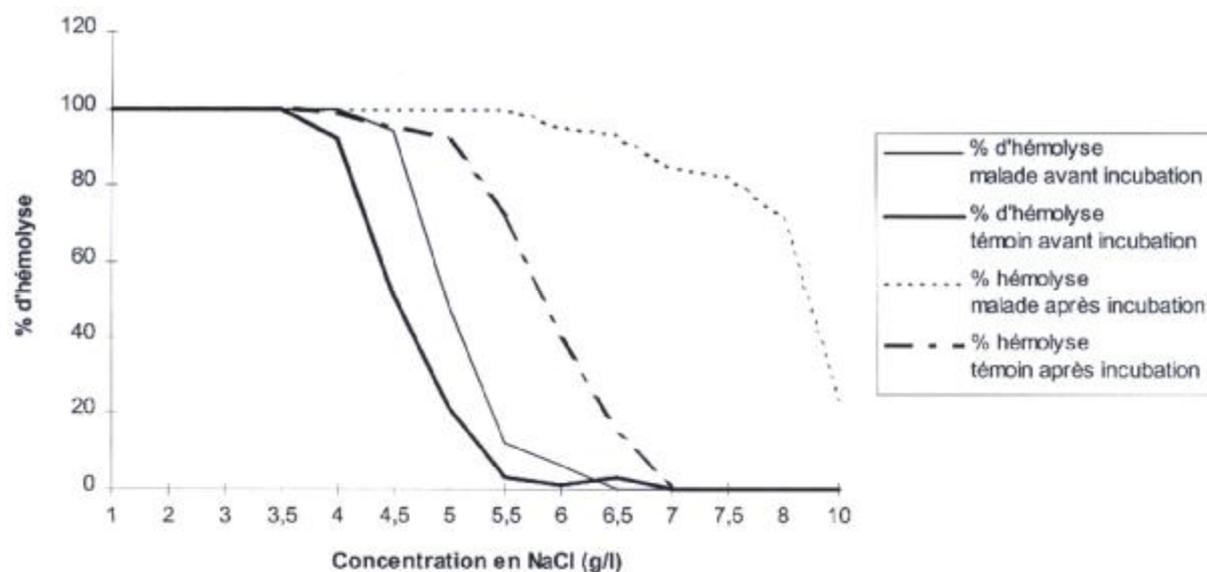


Figure 15: Courbe montrant la fragilité osmotique des érythrocytes normaux et celle des érythrocytes issus d'un patient atteint de SH [2].

Le test de la fragilité osmotique a été positif chez tous les patients de notre série, ceci rejoint les résultats trouvés dans les études de Hee Joung Choi et al [63] et Wafaa Lahcini et al [57]. Par ailleurs, ce test est normal chez 50% des cas selon Amina Abdel-Salam et al [62], chez 17% des cas selon Adlette Inati et al [71], et chez 26,1% des cas selon Delhommeau et al [86]. Ces derniers ont prouvé que la fragilité osmotique normale ne permet cependant pas d'éliminer une SH (tableau 19).

Tableau 19 : Résultats des tests de fragilité osmotique dans différentes séries.

Auteurs	Test de fragilité osmotique positif
Amina Abdel-Salamet al [62].	50%
Delhommeau et al [86].	73,91%
Adlette Inati et al [71].	83%
Hee Joung Choi et al [63].	100%
Wafaa Lahcini et al [57].	100%
Notre étude	100%

### B. Test d'auto-hémolyse 48h à 37°C ou test de Dacie :

Ce test portant du sang défibriné laissé 24 ou 48 h à 37°C normalement l'hémolyse spontanée est inférieure à 5% et à 1% sans et avec glucose. En cas de SH, on dépasse franchement les 5%. On peut essayer une correction par l'adjonction de glucose ou d'ATP nécessaire pour le besoin énergétique accru des globules rouges pathologique. Toutefois un test normal ou subnormal n'exclut pas le diagnostic de la SH. Le test d'auto-hémolyse est très sensible mais peu spécifique, il est peu réalisé en routine [112,114].

### C. Test de lyse au glycérol acidifié (AGLT) :

La composition lipidique de la membrane est un déterminant majeur de la perméabilité au glycérol et au taux de NaCl auquel la cellule va être lysée lors de son exposition au glycérol. Le principe du test est basé sur le fait que la pénétration de l'eau dans les GR est ralentie par l'adjonction de glycérol. On mesure le temps nécessaire pour obtenir 50% de l'hémolyse initiale (AGLT50) c'est-à-dire la valeur de l'absorbance mesurée à 625 nm avant l'addition du glycérol. Chez un sujet normal, AGLT50 est obtenu après plus de 30 minutes, tandis que dans la SH, l'hémolyse est plus rapide: AGLT50 est obtenu en 50 à 100 secondes.

La sensibilité de test de lyse au glycérol acidifié est de 81,6 % et la spécificité est de 100% en comparaison avec le Pink test. Cette technique est simple, rapide et peu coûteuse. Mais sa reproductibilité d'un laboratoire à un autre est mauvaise car l'instabilité du pH de la solution isotonique due au développement de micro-organismes pendant le stockage à 4°C. Il existe de faux positifs en cas d'anémie hémolytique, d'insuffisance rénale et de grossesse [115]

#### D. Pink test :

C'est un test de dépistage des hémolyses pathologiques, il est très utile pour le diagnostic de la SH notamment chez les petits enfants car il consomme très peu de sang. Il est simple de réalisation et largement validé scientifiquement dans cette indication. Il s'agit d'un test de lyse au glycérol acidifié modifié. Ce test, semi-quantitatif ou quantitatif, mesure l'hémolyse d'un petit échantillon de sang dans une solution contenant du glycérol (135 mmol/L), du NaCl (25 mmol/L), du NaN<sub>3</sub> (1,5 mmol/L) et du HCl avec une osmolarité fixée à 290 milliosmole. Cette solution est tamponnée à un pH de 6,6. Le test est réalisé sur un sang frais (moins de 3 H) et se fait en comparaison d'un échantillon témoin. On met en contact les GR avec la solution spécifique et après 30 mn d'incubation à une température ambiante, on centrifuge l'ensemble à 2000 tours/mn pendant 7 mn. La densité optique du surnageant est mesurée à 540 nm (première absorbance) par spectrophotométrie. Une deuxième mesure de l'absorbance est réalisée après avoir lysé tous les GR dans un milieu contenant 2 à 3 gouttes de Triton X 100 et un délai d'attente de 5 mn. Le résultat correspond au rapport entre ces deux valeurs d'absorbance [1,116].

Chez un sujet normal ce rapport est compris entre 0 et 28,5%. Ce test est en faveur d'une hémolyse pathologique si le résultat est supérieur à 28,5%. Ce test a l'avantage d'être d'exécution rapide et peut être réalisé par tous les laboratoires qui ont accès à un osmomètre. Les résultats ne dépendent pas du pH de la solution (contrairement au test de lyse au glycérol acidifié) et donc la reproductibilité est bonne. La sensibilité varie de 96 à 97,4%, mais il existe des faux positifs quand il y a élliptocytose, anémie hémolytique autoimmune, l'insuffisance rénale chronique, et chez 40% des femmes enceintes au troisième trimestre. La spécificité est de 97% mais il existe de faux négatifs chez le nourrisson de moins de 4 mois dus à l'hémoglobine

foetale et en cas de  $\beta$  thalassémie, mais sa spécificité est seulement de 78,9% par comparaison avec l'ektacytométrie [1,116].

#### E. Test de cryohémolyse :

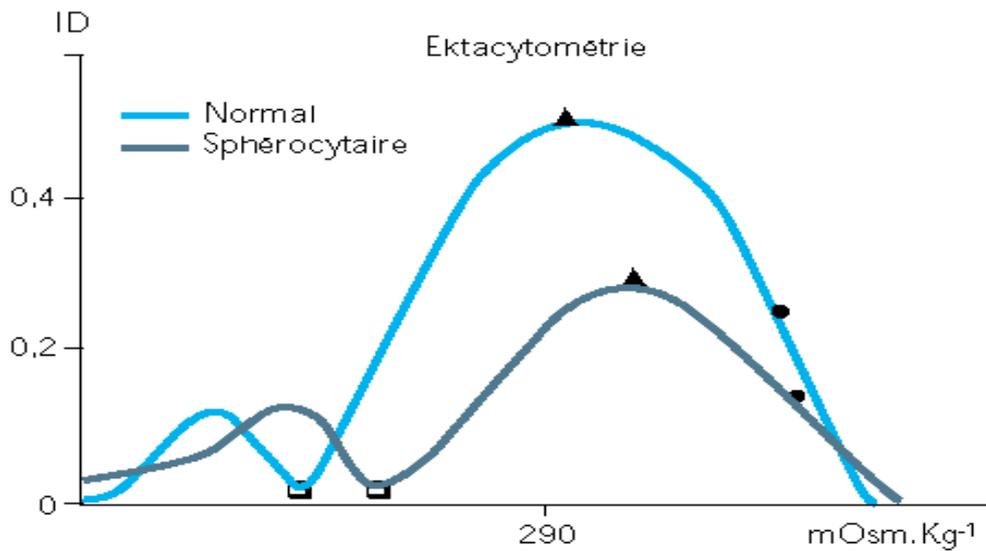
Ce test décrit en 1998 par Streichman et Gescheidt, permet de mesurer l'hémolyse des GR placés dans des solutions hypertoniques après exposition à des températures basses. Il ne dépend pas du rapport S/V mais des propriétés de la membrane érythrocytaire et paraît plus sensible et plus spécifique que l'étude de la résistance osmotique [117,118]. Lorsque les GR, placés dans un milieu hypertonique, subissent un choc thermique (de 37°C à 0°C), il se produit une hémolyse massive. L'importance de l'hémolyse dépend de la tonicité et de la température du milieu. Les sphérocytes placés dans les solutions hypertoniques sont plus sensibles que les GR normaux à des variations brutales de température.

Le pourcentage de cryohémolyse est le rapport entre la densité optique mesurée à 540 nm de l'échantillon après 10 minutes d'incubation à 0°C et de la densité optique de l'échantillon avec une hémolyse de 100%. Un sujet normal a un pourcentage de cryohémolyse compris entre 3 et 15%. Alors que ce pourcentage est supérieur à 20% chez les sujets atteints de la SH. Comparé aux tests précédemment décrits, le test de cryohémolyse a une sensibilité de 100% et une spécificité de 90%. De plus, ce test est peu coûteux, simple à mettre en oeuvre et rapide. Il ne nécessite qu'un faible volume de sang (200 à 500  $\mu$ L) ce qui le rend accessible même aux nouveau-nés. D'autant Plus que contrairement à la résistance osmotique qui est diminué chez les nouveau-nés, il n'y a aucune influence de l'âge sur la cryohémolyse [119,120].

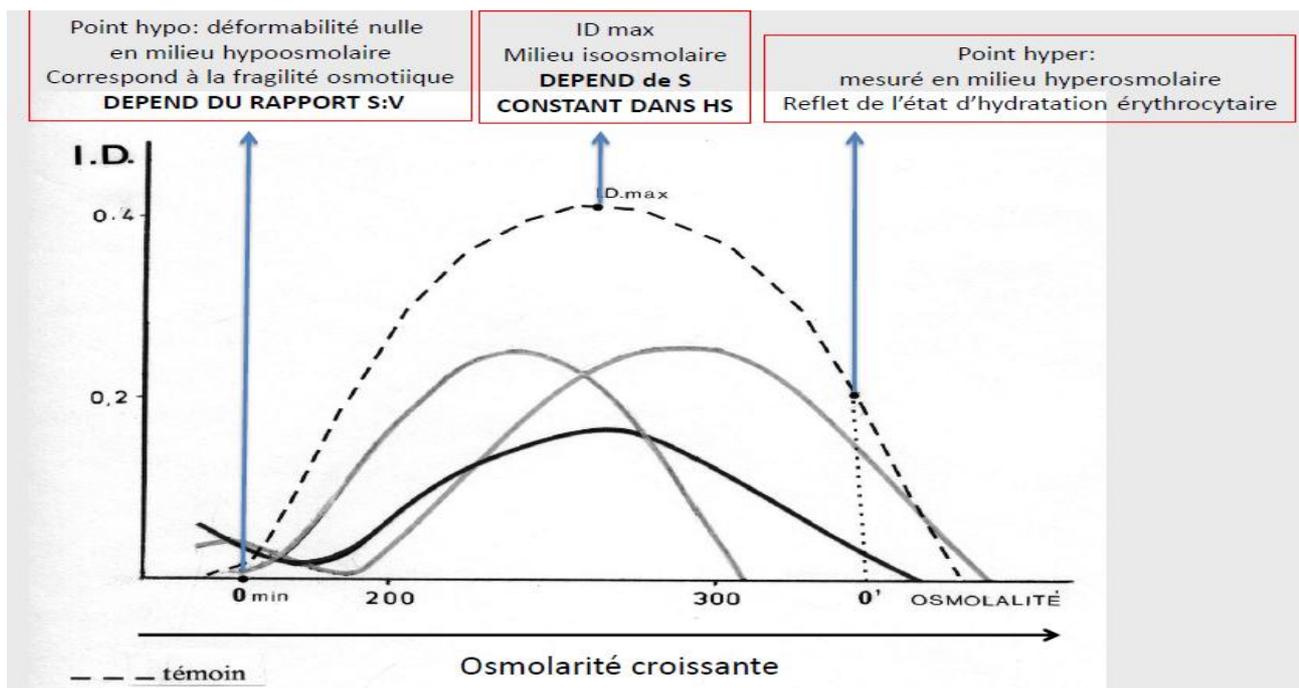
### 6.2.2. Ektacytométrie en gradient osmolaire et l'élongation

L'éktacytomètre a été mise au point lors de la collaboration entre Marcel Bessis et Narla Mohandas à l'institut de pathologie cellulaire à Paris en 1974 et 1975. Il s'agit d'un appareil qui mesure la déformabilité des GR soumis à une force de cisaillement constante générée par un viscosimètre de Couette. Conjointement, on fait varier l'osmolarité du milieu de suspension des cellules. Les GR circulent en flux continu, passent devant un rayon laser dont ils diffractent la lumière. Le signal lumineux est traduit en index de déformabilité (ID) ou index d'élongation (IE) quantifie l'étirement ou l'ellipticité de la cellule. Il est enregistré de façon continue en fonction du gradient osmolaire [1,2,75]. On obtient une courbe indiquant en ordonnée un index de déformabilité et en abscisse l'osmolarité du milieu de suspension (figure15). La courbe obtenue comporte trois points importants :

- Le point « hypo » ou « O min » : osmolarité, en région hypo-osmolaire, pour laquelle la déformabilité est nulle, car les hématies sont devenues parfaitement sphériques, il traduit le rapport S/V.
- L'ID max : index de déformabilité maximale. Il est directement dépendant de la surface cellulaire.
- Le point « hyper » ou O': osmolarité, en région hyperosmolaire, pour laquelle la déformabilité des hématies est égale à la moitié de l'ID max. Il est corrélé avec la CCMH et donc avec l'état d'hydratation cellulaire (figure 16) [2].



**Figure 16 :** Ektacytométrie en gradient osmolaire chez un sujet atteint de la SH : l'index de déformabilité maximale (triangle noir) est diminué, le point « hypo » (carré) dévié à droite, le point « hyper » (rond noir) dévié à gauche [4].



**Figure 17 :** Ektacytométrie en gradient osmolaire: courbes de déformabilité des globules rouges de 3 patients atteints de sphérocytose héréditaire. ID max est plus bas que la normale pour les 3 patients. O min est normal chez les patients 2 et 3 et augmenté chez les patients 1 et 4. O' est diminué chez trois patients (1, 2 et 4), traduisant une déshydratation cellulaire dans ces 3 échantillons [121].

Ces modifications ne sont pas constantes chez tous les porteurs de la SH. Le test d'éktacytométrie permet ainsi de faire le diagnostic de tous les cas de SH et de les distinguer des autres anomalies constitutionnelles de membrane (elliptocytoses héréditaires, PPH (pyropoïkylocytose héréditaire) et les 2 formes de stomatocytoses héréditaires [DHS (Stomatocytoses héréditaires avec déshydratation des GR) et OHS (Stomatocytoses héréditaires avec hyper hydratation des G)]. Seuls certains cas de CDA II (Dysérythropoïèses congénitales de type II) et d'AHAI peuvent reproduire une courbe de SH [1,2]. Ces différents tests sont à choisir en fonction de l'expérience du laboratoire. Le test de la résistance osmotique est le moins sensible et le moins spécifique de tous les tests, alors que l'éktacytométrie est le plus sensible et le plus spécifique [1,2].

#### 6.2.3. Méthode de cytométrie en flux après marquage des GR avec l'éosine-5-maléimide :

Le test de cytométrie en flux est destiné à mesurer l'intensité de la fluorescence des érythrocytes lavés et incubés avec un agent intercalant membranaire, l'éosine-5'-maléimide. L'intensité de la fluorescence est exprimée en unités IMF (Intensité moyenne de fluorescence). L'acquisition des données se fait à l'aide d'un logiciel informatique [Do-Rouvière, 2008]. L'éosine-5'-maléimide (EMA) se lie aux protéines de la membrane érythrocytaire, principalement à la protéine bande 3 [1]. Dans les cas de sphérocytoses, d'elliptocytoses et de PPH, ces protéines sont déficitaires, et la fluorescence obtenue est plus faible. La liaison de l'EMA à la lysine-430 sur la première boucle extracellulaire de la protéine bande 3 est responsable d'environ 80% de la fluorescence [1,122,123]. Le reste de la fluorescence est imputable à la liaison de l'EMA avec des groupements sulfhydryles appartenant au « complexe Rhésus » (CD47, RhAG3 et le polypeptide Rhésus), présents à la surface des GR. Une diminution de ces molécules à la surface des GR a été démontrée dans la SH. La liaison de l'EMA

à ces protéines (bande 3, CD47, RhAG et polypeptide Rhésus) qui sont étroitement associées au cytosquelette du GR, explique la spécificité élevée de ce test. Bien que l'EMA n'interagisse pas directement avec la spectrine, l'ankyrine et la protéine 4.2, trois molécules aussi en cause dans la SH, la liaison de l'EMA au CD47, au polypeptide Rh et à la Rh AG est un reflet indirect mais fiable de la composition du cytosquelette [124].

La réduction de l'intensité de la fluorescence est calculée en pourcentage selon la formule suivante (IMF chez les témoins - IMF patient)/IMF des témoins x 100 [Dorouvière, 2008]. Le demandeur interprète les résultats comme suit :

- § Diminution de la fluorescence de 0% à 15% (variation interindividuelle normale) : normal, « absence de la SH ».
- § Diminution de la fluorescence de 15% à 20% (variation interindividuelle légèrement augmentée) : douteux, « SH possible ».
- § Diminution de la fluorescence de plus de 20% (variation interindividuelle anormalement augmentée) : anormal, « SH probable » [122].

L'analyse requiert un échantillon de sang entier (EDTA ou héparine de sodium) du patient et de deux à trois échantillons témoins négatifs (d'un sujet normal, non apparenté, non fumeur) pour chaque journée d'analyse, il est important que le sang du patient et des témoins soit prélevé sur le même anticoagulant. L'âge et le sexe du patient et du témoin doivent être indiqués. Les spécimens doivent être réfrigérés à 4°C et parvenir au laboratoire dans les 96 heures. Le Test à l'EMA est à la fois plus sensible et plus spécifique. Il semble donc intéressant mais nécessite d'être mieux évalué en France. Sa comparaison avec l'éktacytométrie est en cours [1,125].

**Tableau 20 :** Performance comparative des méthodes de diagnostic de la sphérocytose héréditaire [125].

ÉTUDE	EMA			AGLT			FO			CH		
	SE %	SP %	AUC	SE %	SP %	AUC	SE %	SP %	AUC	SE %	SP %	AUC
Bianchi <i>et al.</i> , 2012	93	98		95			68* 81†					
Crisp <i>et al.</i> , 2012	90	-	-							95		
Crisp <i>et al.</i> , 2011	70,2	96,1	0,873				58,8‡ 73,5§	99,1‡ 74,4§	0,784‡ 0,827§	78,7	95,8	0,916
Kar <i>et al.</i> , 2010	96,4	94,2	0,99				71,4	74,1				

Abréviations : AGLT : test d'hémolyse en milieu glycérolé et acidifié (*acidified glycerol lysis test*); AUC : aire sous la courbe; CH : cryohémolyse; EMA : éosine-5'-maléimide; FO : fragilité osmotique; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

\* FO avec NaCl frais

‡ FO avec NaCl incubé

‡ Incubée

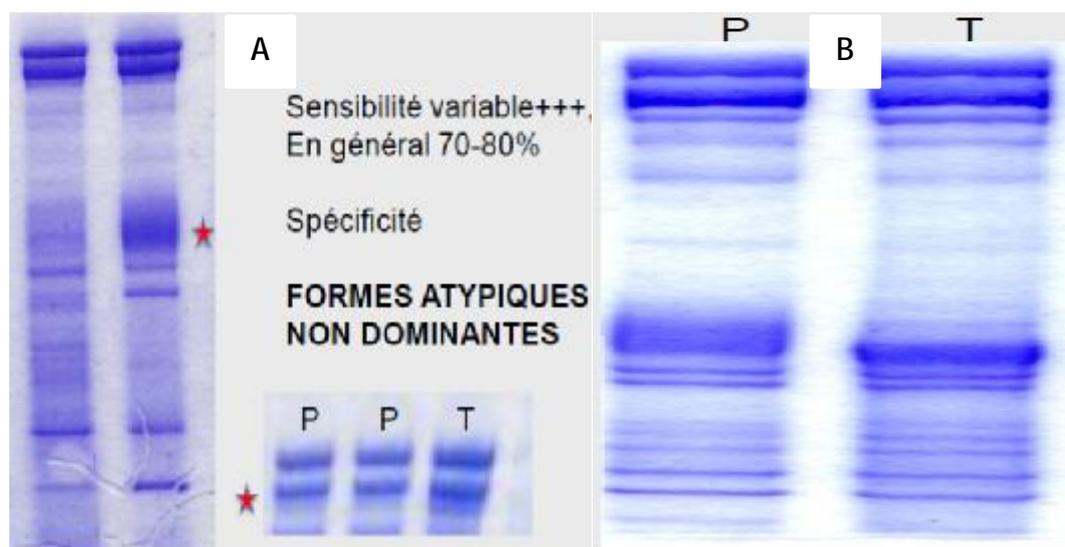
§ Non incubée

#### 6.2.4.Électrophorèse des protéines de la membrane des globules rouges en gel de polyacrylamide (SDSPAGE) :

Il s'agit d'une technique délicate réservée à des laboratoires spécialisés. Deux types d'électrophorèse sont utilisés pour chaque échantillon, celui selon Laemmli et celui selon Fairbanks. Ils permettent d'identifier la protéine membranaire déficiente et de soupçonner le gène responsable dans environ 60% des cas [1,2]. Dans les SH, les anomalies les plus fréquentes sont liées à une mutation du gène *ANK1* qui aboutit à un déficit en ankyrine, associé à un déficit secondaire en spectrine et en protéine 4.2 et/ou en spectrine, protéines toutes deux liées à l'ankyrine. Ce déficit en ankyrine, s'il est modeste, peut être masqué par l'augmentation des réticulocytes, riches en cette protéine. L'électrophorèse doit donc être interprétée en fonction du taux de réticulocytes. Les mutations du gène *EPB3* entraînent un déficit en bande 3 avec une diminution secondaire de la protéine 4.2, liée à la bande 3. Il existe plus rarement des déficits primaires en protéine 4.2 ou en spectrine. L'identification de la protéine responsable est un complément intéressant du bilan, mais peut ne pas être envisagée

systematiquement pour chaque malade. Lorsque le mode de transmission est dominant et que le diagnostic a été confirmé par les tests conventionnels, l'électrophorèse des protéines membranaires n'est pas indiquée. En revanche, il est licite de faire systematiquement cet examen dans les formes non dominantes afin de ne pas méconnaître une éventuelle CDA II [1,2].

L'électrophorèse des protéines membranaires est également indiquée dans les formes atypiques de la SH avec anémie macrocytaire et test de Coombs négatif à plusieurs reprises. Enfin, ce type d'examen a toute sa place pour l'exploration familiale des rares formes très sévères, homozygotes ou hétérozygotes composites, ainsi que pour les familles qui associent une SH et une autre pathologie érythrocytaire pouvant masquer certains signes biologiques de sphérocytose comme, par exemple, les familles cumulant une SH et une  $\beta$ -thalassémie hétérozygote [1,2].



**Figure 18:** A : Profil électrophorétique des protéines membranaires érythrocytaires séparées selon la technique de Fairbanks. B : Aspect qualitatif : anomalie de migration de la Band 3 dans les CDAII [121].

6.2.5. Etude moléculaire :

Aujourd'hui, les investigations de routine sont prolongées par l'électrophorèse des protéines membranaires et l'étude de leurs gènes. Pour cette dernière sont mises en oeuvre les techniques usuelles de la génétique moléculaire, et notamment la PCR (polymerase chain reaction) et la recherche de SSCP (single strand conformational polymorphism). Aucune équipe ne réalise en routine le séquençage de l'un des cinq gènes impliqués dans la SH. L'indication d'une étude moléculaire est exceptionnelle et réservée au conseil génétique dans des cas de la SH très sévère [1].

Tableau 21 : Examens biologiques spécifiques pour le diagnostic de la sphérocytose héréditaire [1].

Tests	Principe/faisabilité	Sensibilité /spécificité
Résistance osmotique	Test d'hémolyse/examen de routine	66% / faible
Pink test	Test d'hémolyse/examen simple, délai d'exécution du test < 3 h	96% / 79 à 94%
AGLT	Test d'hémolyse délai d'exécution du test > 3 h	81% / > 95%
Ektacytométrie en gradient osmolaire	Étude de la déformabilité des GR, délai d'exécution du test 24 h	Examen de référence
Cytométrie en flux	Marquage des GR à l'éosine-5-maléimide (liaison à la bande3) / non disponible en routine, délai d'exécution du test > 48 h	En cours d'évaluation

## 7. Recommandations 2011 pour le diagnostic de la SH :

Dans le but de mener à bien le diagnostic de la SH, le comité britannique de l'hématologie préconise les recommandations suivantes :

1. Les patients récemment diagnostiqués qui ont une histoire familiale positive de la SH, des signes cliniques évidents (splénomégalie) ainsi que des signes biologiques orientant vers une SH (sphérocytes, CCMH et réticulocytes augmentées) ne nécessitent pas d'examens supplémentaires (grade 1 recommandation, grade A Evidence) [3].

2. Si le diagnostic est équivoque, par exemple : présence de quelques sphérocytes sur le frottis sanguin, absence d'antécédent familial et absence des signes cliniques et biologiques, un test de dépistage à haute valeur prédictive est utile. Les tests de dépistage recommandés sont: le test de cryohémolyse ou la méthode de cytométrie en flux après marquage des GR avec l'EMA (Grade 1 recommandation, Grade A Evidence). La valeur prédictive des deux techniques du diagnostic de la SH peut être améliorée lorsque les résultats sont examinés parallèlement avec l'information clinique, l'histoire familiale et les indices des GR. Si l'interprétation des résultats est encore équivoque, une étude familiale devra être effectuée afin de déterminer la tendance.

3. Le diagnostic de confirmation pourra être nécessaire si les résultats des tests de dépistage sont limités ou douteux. L'électrophorèse des protéines membranaires est la méthode de choix (Grade 1 recommandation, grade B Evidence). Le principal inconvénient de ce test est le manque de la sensibilité pour les formes minimales ou asymptomatiques (porteurs de la SH) [3].

✓ L'utilisation de SDS-PAGE est recommandée lorsque:

- (a)- Le phénotype clinique est plus sévère que celui prédit par la morphologie des GR.
- (b)- La morphologie des GR est plus sévère que celle prédite par le sang des parents lorsque l'un des parents est connu atteint de la SH.
- (c)- Le diagnostic n'est pas clair avant la splénectomie, quand un patient a une anomalie de la perméabilité de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (trouvée également dans la stomatocytose héréditaire). Quand la morphologie et les indices des GR orientent vers la SH, il n'y aura aucun doute. Dans des cas plus subtils (quand le VCM  $>100$  fl), une clarification est essentielle.

La splénectomie ne peut pas être adéquate pour la prise en charge des patients ayant une stomatocytose héréditaire avec des cellules hyperhydratées et des cellules déshydratées (grade 1 recommandation, grade B évidence).

4. L'étude moléculaire n'est pas requise pour le diagnostic de la SH [3].

NB :

✓ Grade (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation)

Fort (grade 1): de fortes recommandations (grade 1) peuvent être appliquées lorsque on est sûr que les avantages ne compensent pas un préjudice et un fardeau. Le grade 1 de recommandations peut être appliqué uniformément à la plupart des patients considérés comme recommandés.

Faible (grade 2): quand l'ampleur de l'avantage est incertaine, les recommandations faibles grade 2 sont appliquées. Ce grade nécessite un recours judicieux à des patients individuels considérés comme suggérés [3].

✓ Qualité des données et des définitions : (Quality of evidence and definitions)

- (A) Haut: le changement de l'estimation de l'effet est peu probable par les données actuelles dérivées des essais cliniques randomisés sans limites importantes.
- (B) Modéré: les données actuelles fournies par des essais cliniques randomisés avec des limitations importantes ou par des séries des cas peuvent changer l'estimation de l'effet.
- (C) Faible: les données actuelles issues des observations, des études, des séries des cas ou juste d'une opinion, ont un grand impact dans le changement de l'estimation des effets [3].

## 8. Formes cliniques de la SH :

### 8.1. Selon la gravité :

La SH se manifeste par une anémie régénérative de gravité très variable selon les individus, certains sujets étant asymptomatiques, et d'autres nécessitant des transfusions régulières. Eber et al ont proposé de classer la SH en formes asymptomatiques (taux d'Hb et de réticulocytes normaux pour l'âge), minimales ( $11 \leq \text{Hb} \leq 15 \text{ g/dL}$  et  $3\% \leq \text{réticulocytes} \leq 6\%$ ), modérées ( $8 \leq \text{Hb} \leq 12 \text{ g/dL}$  et réticulocytes  $> 6\%$ ) et sévères ( $6 \leq \text{Hb} \leq 8 \text{ g/dL}$  et réticulocytes  $> 10\%$ ) [1]. Cette classification est modifiée récemment par Silverio Perrotta et qui ont proposé de classer la SH en formes Légères, modérées, modérément sévères et sévère [4].

- Ø Formes légères: ces formes représentent 20 à 30% des cas. L'hémolyse chronique est complètement compensée par l'érythropoïèse. La maladie est souvent asymptomatique, elle peut donc rester inaperçue pendant de longues années, et se révéler suite à une infection virale (le plus souvent par le parvovirus B19) ou une grossesse ou bien suite à l'apparition de complications comme une lithiase biliaire [4].

- Ø Formes modérées : elles représentent 60 à 70% des cas. Cette forme est caractérisée par une hémolyse non complètement compensée avec une anémie légère à modérée et un recours à la transfusion de manière sporadique. Cette forme se manifeste habituellement dans la petite enfance par une anémie dans 50% des cas suivie d'une splénomégalie et puis d'un ictère. Ces patients doivent bénéficier d'une splénectomie, de préférence avant la puberté [4].
- Ø Formes modérément sévères : elles représentent 5 à 7% des cas. Le principal signe clinique est une anémie sévère nécessitant des transfusions itératives jusqu'à la splénectomie. Ces patients présentent une réponse partielle à la splénectomie car un degré considérable d'hémolyse persiste [4].
- Ø Les formes sévères : Presque 3 à 5% des cas présentent cette forme très sévère de la maladie. Ces patients nécessitent des transfusions régulières pour augmenter le taux d'hémoglobine bas qui est généralement inférieur à 6g/dl [4].

Dans notre série, la forme modérée de la SH est la plus fréquente, contrairement à Anirban Das et al où la forme sévère de la SH est la plus répandue [61].

**Tableau 22:** Classification de la SH selon Silverio Perrotta et al [4].

	Mild	Moderate	Moderately severe	Severe*
Haemoglobin (g/L)	Normal	>80	60–80	<60
Reticulocytes	<6%	>6%	>10%	>10%
Bilirubin (µmol/L)	17.1–34.2	>34.2	>34.2–51.3	>51.3
Peripheral smear	Some spherocytes	Spherocytes	§spherocytes	Microspherocytes and poikilocytosis
OF (fresh blood)	Normal or slightly increased	Increased	Increased	Increased
OF (incubated blood)	Increased	Increased	Increased	Increased
Splenectomy	Rarely†	If physical ability is decreased or in some cases‡	Necessary (at >5 years)	Necessary (at >2–3 years)
Transfusions	0–1	0–2‡	>2	Regular
SDS-PAGE (protein deficiency)	Normal	Sp, Ank+Sp, band 3, protein 4.2	Sp, Ank+Sp, band 3	Sp, Ank+Sp, band 3
Heredity	AD	AD, de novo mutation	AD, de novo mutation	AR

AD=autosomal dominant. Ank=ankyrin-1. AR=autosomal recessive. OF=osmotic fragility. SDS-PAGE=sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. Sp=spectrin. \*Patients depend on regular transfusions. †Adults undergoing cholecystectomy or with pronounced jaundice. ‡Some patients need one or two transfusions during infancy.

## 8.2. Selon l'association de la SH à d'autres pathologies:

### Ø Un trait thalassémique :

Cette association est très rare. La microcytose est très intense. Il a été rapporté une partielle correction du phénotype de la SH lors de d'une coexistence du trait B-thalassémique et une SH due à un déficit en bande 3 [126]. Dans l'étude d'Amina Abdel-Salam et al [62], deux cas (soit 5%) ont une SH associée à un trait bêta thalassémique. Dans notre étude, l'association de la SH à un trait bêta thalassémique n'a pas été dévoilée.

### Ø Un trait drépanocytaire :

Cette combinaison est rare. Elle a été rapportée chez une famille soudanaise, concernant un père âgé de 65 ans et son fils âgé de 6 ans, on a constaté une amélioration spontanée de l'évolution clinique du fait de la fibrose splénique

secondaire à la falciformation (auto-splénectomie) [127]. Dans notre série, l'association de la SH à une drépanocytose n'a pas été enregistrée.

Ø Une carence martiale :

C'est une association fréquente du fait de l'incidence élevée de la sidéropénie. Elle donne un caractère trompeur de l'anémie qui devient hypochrome nettement microcytaire peu régénérative et d'autant que celle-ci peut s'accompagner d'une splénomégalie, d'un trouble de la résistance globulaire, d'une hyperbilirubinémie, et d'une diminution de l'haptoglobine. Seule la notion familiale permettrait d'évoquer le diagnostic [108].

Dans notre série, la SH a été associée à une anémie ferriprive dans 27,8% des cas.

Ø Un déficit en pyruvate kinase (PK) :

La coexistence de la SH et le déficit en PK est très rare, peu d'étude l'ont entamé. Plusieurs auteurs suggèrent de réaliser une surveillance élémentaire de la PK chez les patients atteints de la SH. Ceci peut aider à la détermination de la fréquence réelle de cette association apparemment rare [128]. Dans notre série, aucune coexistence de la SH et le déficit en PK n'a été enregistrée.

▼ Un déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) :

La coexistence de la SH et le déficit en G6PD est un phénomène inhabituel et rare. Selon Prabhaker Set al, un seul cas a présenté cette association [126], et selon une étude faite par Adlette Inati et al, la SH est associée à un déficit en G6PD dans 21,7% des cas [71]. Dans notre série, aucune association de la SH et le déficit en G6PD n'a été notée.

## 9. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL :

La présence de sphérocytes, une fragilité osmotique augmentée ou l'existence de cellules hyperdenses ne sont pas pathognomoniques de la SH. Elles existent également au cours des pathologies suivantes [2].

### 9.1. Anémie hémolytique acquise d'origine immune :

Elle peut être auto-immune ou liée à une incompatibilité materno-foetale. La formation des sphérocytes est liée à une perte de membrane par phagocytose partielle, par les macrophages, du complexe antigène-anticorps ancré sur la membrane du GR. Les résultats donnés par les automates, l'examen du frottis, l'étude de la résistance globulaire et l'ektacytométrie sont indiscernables de ceux de la SH. Mais le contexte est différent (Notion d'un test de Coombs direct érythrocytaire positif ou, chez le nouveau-né, d'une incompatibilité, le plus souvent ABO) et ces anomalies régressent avec le traitement ou le temps. Il faudra cependant chez le nouveau-né se méfier de l'association d'une incompatibilité ABO et d'une SH [2].

### 9.2. Elliptocytoses héréditaires sévères :

Elles sont aussi liées à une anomalie des protéines de la membrane érythrocytaire, notamment la spectrine et la protéine 4.1. Il peut exister des cellules hyperdenses et des microsphérocytes provoqués par fragmentation. Dans ce cas, l'histogramme des volumes montre une sous-population microcytaire avec une courbe en double bosse. La fragilité osmotique est augmentée. Le frottis révèle, outre la présence d'elliptocytoses, une fragmentation érythrocytaire. La courbe d'ektacytométrie est anormale avec une diminution de la déformabilité et un aspect trapézoïdal, caractéristique de l'elliptocytose [94-2].

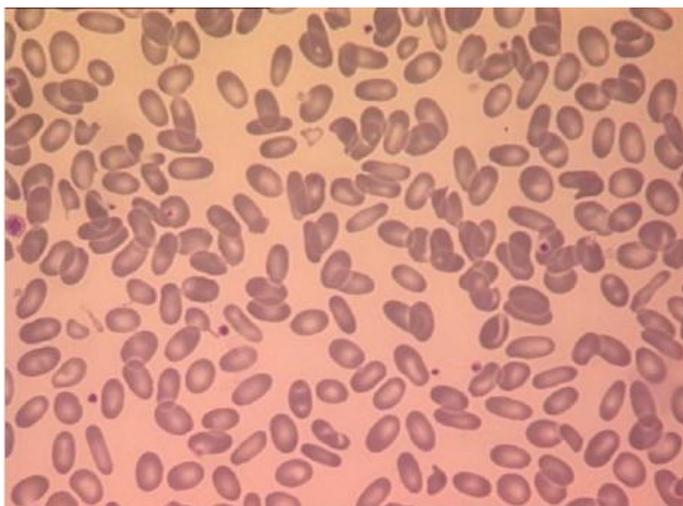


Figure 19: Frottis sanguin montrant un elliptocyte [121].

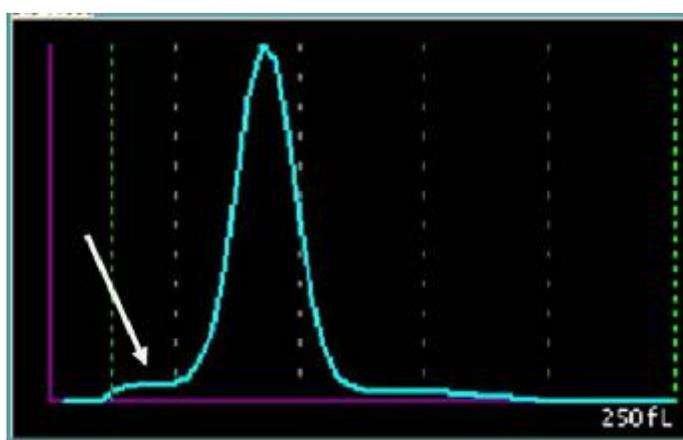


Figure 20 : Histogramme de distribution des volumes érythrocytaires montrant un petit épaulement à gauche (flèche), signalant l'existence de petites hématies [121].

La PPH fait partie d'une variété grave d'elliptocytose héréditaire. C'est une maladie héréditaire rare qui atteint de façon privilégiée les sujets de race noire. Elle se transmet sur le mode autosomique récessif et apparaît dès les premiers jours de vie. La PPH se présente avec une anémie hémolytique profonde nécessitant des transfusions de culots globulaires phénotypés. Après marquage à l'EMA une réduction de fluorescence est observée. Cette réduction est plus basse que celles observées dans les SH. Quand IMF est au-dessous de l'intervalle inférieur de référence pour la SH, c'est probablement une PPH si le VGM est inférieur ou égal à 60 fL. Une analyse de la spectrine est alors recommandée pour confirmer le diagnostic [130].

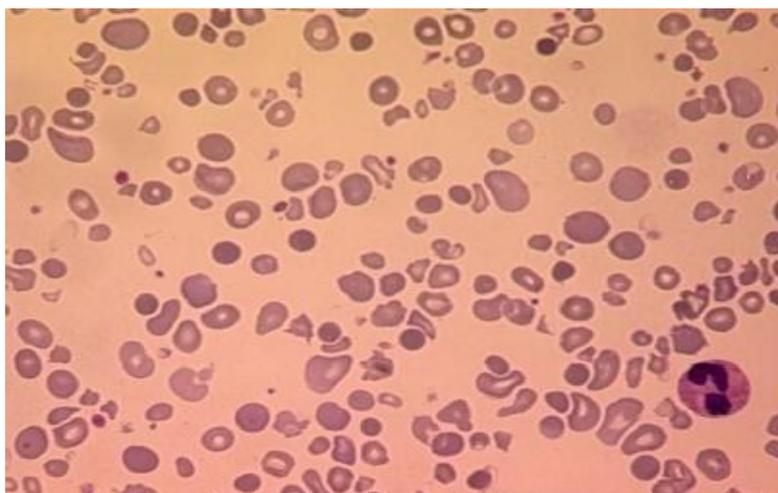


Figure 21 : Frottis sanguin montrant une grande poikilocytose constituée d'hématies fragmentées, de toutes formes et de taille réduite avec présence des sphérocytes et quelques grands GR (correspondant à des réticulocytes) [121].  
Remarque : L'aspect cytologique sur frottis se rapproche de celui observé chez les grands brûlés.

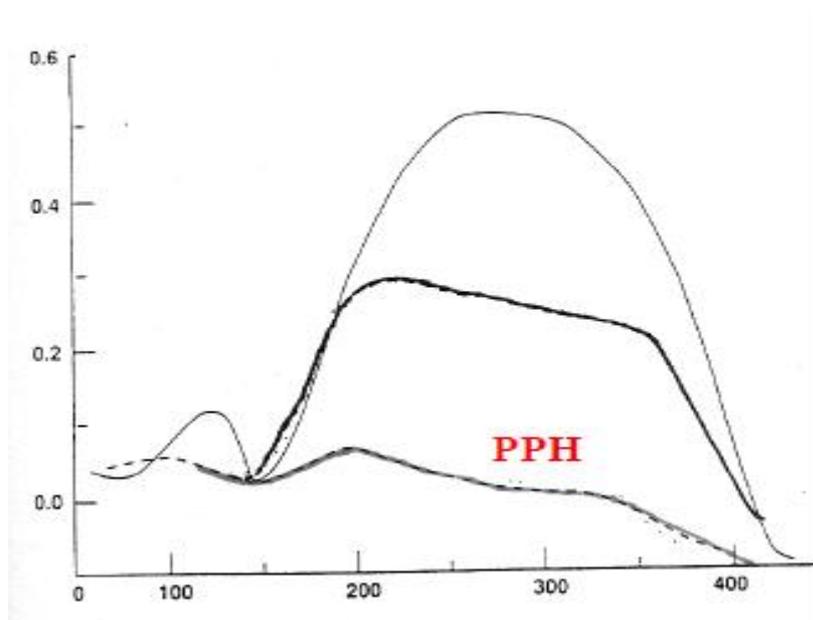


Figure 22 : Ektacytométrie montrant une réduction de la fluorescence dans PPH [121].

### 9.3. Stomatocytose

Dans ses variantes avec cellules déshydratées (xérocytose) ou avec cellules hyperhydratées, elle ne devrait guère prêter à confusion car l'aspect sur le frottis des stomatocytes est caractéristique. Dans la forme avec cellules hyperhydratées, il existe une macrocytose et la fragilité osmotique est augmentée. Elle est diminuée dans la xérocytose où existent des cellules hyperdenses. Dans les deux cas, les aspects de la courbe de l'éktacytométrie sont très évocateurs. Ce diagnostic différentiel est important : la splénectomie dans ces deux affections est peu efficace et source de complications thrombotiques graves [2,94].

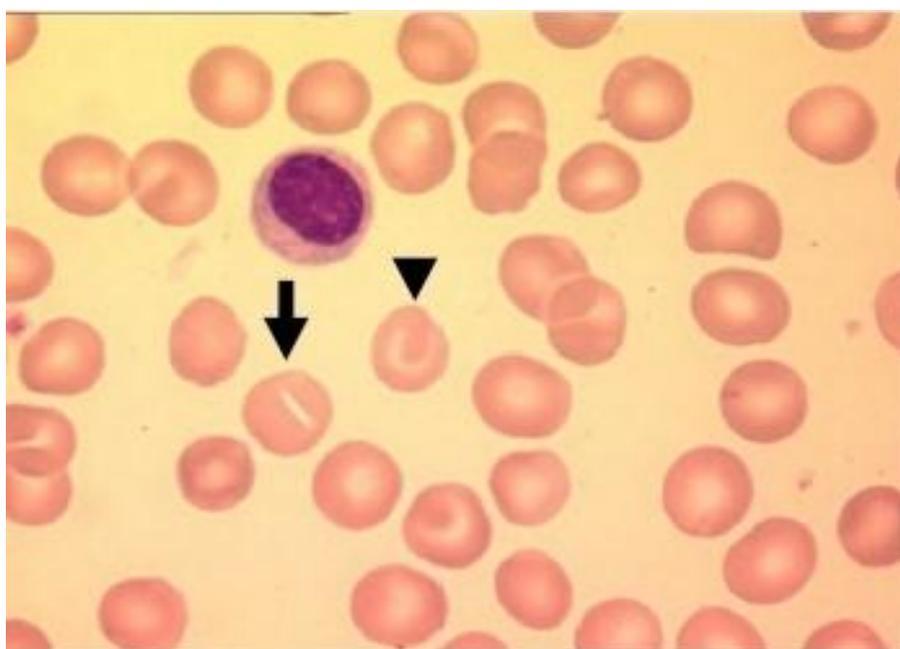


Figure 23 : Stomatocyte sur un frottis sanguin [121].

### 9.4. Ovalocytose du sud-est asiatique (SAO) :

Il s'agit d'un trait asymptomatique à l'état hétérozygote, très répandu dans une région s'étendant de la Thaïlande à la Mélanésie. Il se caractérise par la présence de stomato-ovalocytes sur le frottis, sans autre anomalie hématologique, avec une perte totale de déformabilité élastique à l'ektacytométrie [94].

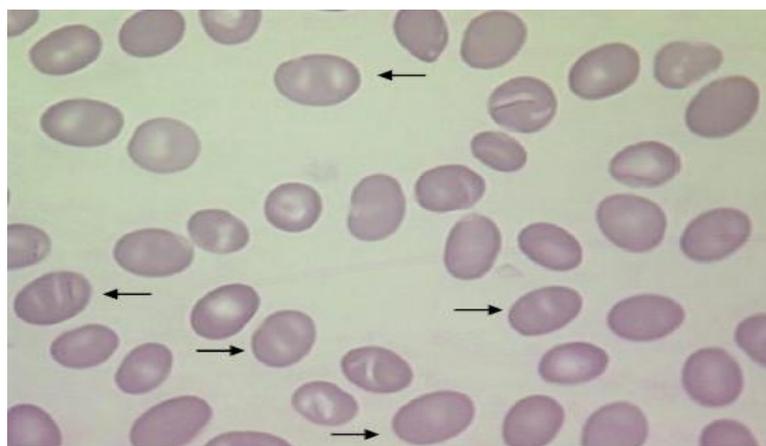


Figure 24 : Frottis sanguin montrant des ovalocytes avec une fente transversale centrale [121].

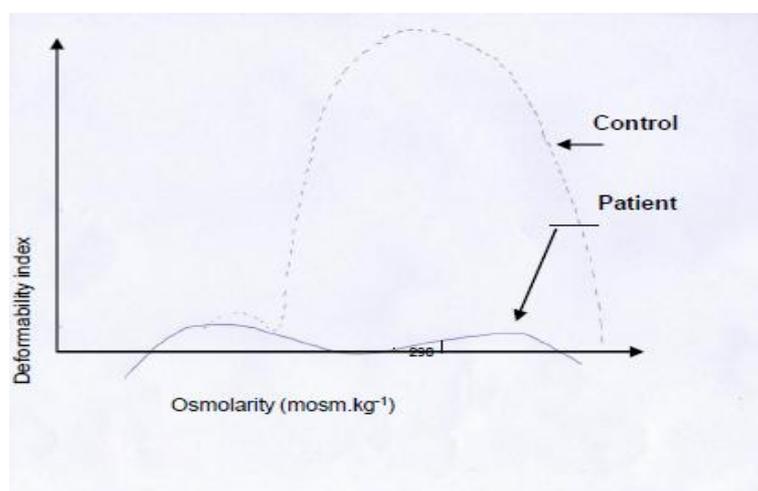


Figure 25: Ektacytométrie montrant une perte totale de la déformabilité élastique dans l'ovalocytose Sud -Est asiatique [121].

### 9.5. Dysérythropoïèses congénitales de type II (CDAII) :

Les dysérythropoïèses congénitales représentent un groupe de pathologies héréditaires rares touchant l'érythropoïèse. Elles sont caractérisées par une érythropoïèse inefficace associée à des anomalies morphologiques des érythroblastes médullaires. Trois types ont été individualisés mais le type II est le plus fréquent qui se transmet selon le mode autosomal récessif. L'association de la dysérythropoïèse congénitale de type II à une hématopoïèse extramédullaire en compensation à l'anémie chronique est aussi très rare. Le CDA II est certainement sous-estimé car

fréquemment confondu avec la SH à cause de l'anémie hémolytique chronique avec splénomégalie, la fragilité osmotique augmentée et la présence de microsphérocytes. Or ce diagnostic différentiel est important afin de prévenir les surcharges en fer sévères qui sont fréquentes dans le CDA II et rares dans la SH. L'identification d'un CDA repose sur l'examen du frottis sanguin qui révèle la présence d'érythroblastes bi ou multinucléés et sur l'examen de la moelle au microscope optique qui met en évidence une hyperplasie médullaire et la présence d'érythroblastes binucléés. L'électrophorèse des protéines de la membrane érythrocytaire montre un aspect pincé de la bande 3 (transporteur des anions), et la présence de protéines du réticulum endoplasmique (la calréticuline, la protéine 78 de régulation du glucose et la disulfide isomérase, de 74, 59 et 58 kDa, respectivement) [131,132].

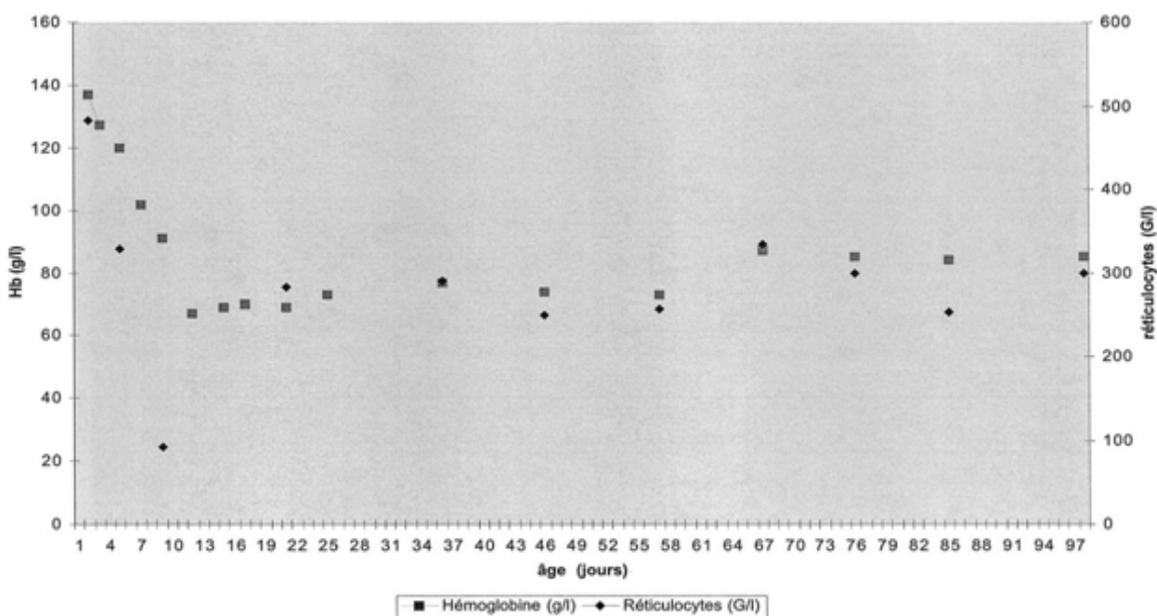
## 10. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE:

### 10.1. Traitements médicaux :

#### 10.1.1. Erythropoïétine :

L'utilisation de l'érythropoïétine recombinante a été proposée en cas d'anémie comme alternative aux transfusions de GR pendant les premiers mois de vie. L'évaluation de ce traitement est en cours mais des résultats préliminaires plaident en sa faveur. Il a été observé que l'administration par voie sous-cutanée de r-HuEPO (recombinant human erythropeitin) à la dose de 500 à 1000/UI/kg/semaine chez 3 enfants atteints de SH avec anémie sévère s'était accompagnée d'une augmentation spectaculaire du taux de réticulocytes, rendant ainsi ces enfants indépendants vis-à-vis des transfusions [93]. Dans un autre cas, l'arrêt fortuit du traitement par r-HuEPO à l'âge de 7 mois s'est traduit par une chute brutale de la concentration d'hémoglobine, résolutive après reprise du traitement par r-HuEPO. Enfin, chez un autre enfant atteint de SH, mais non transfusé, la cinétique du taux de réticulocytes sous traitement par r-HuEPO a été comparée à celle de son jumeau sain et a mis en évidence un taux de réticulocytes 3 fois plus élevé chez le jumeau atteint. Les mêmes auteurs ont ensuite mené une étude multicentrique préliminaire concernant l'utilisation de l'érythropoïétine (1000 UI/kg/semaine, par voie sous-cutanée) chez 16 enfants (âgés de 16 à 119 jours) atteints de SH avec anémie sévère : chez 13 enfants sur 16, une ascension rapide du taux des réticulocytes a été notée dès la fin de la première semaine de traitement. Pendant la durée du traitement, la concentration d'hémoglobine est restée stable et 10 de ces 13 enfants n'ont pas nécessité de transfusion sanguine. Les doses d'érythropoïétine ont été progressivement décroissantes, puis le traitement a pu être interrompu avant l'âge de 9 mois en raison de la stabilité de la concentration d'hémoglobine malgré la décroissance des doses de r-HuEPO. Chez un nouveau-né atteint de sphérocytose,

ces auteurs recommandent de débiter un traitement par r-HuEPO, uniquement si l'hémoglobine est inférieure à 8 g/dl et les réticulocytes inférieurs à 200 g/l. Cependant, l'utilisation de l'érythropoïétine par voie sous-cutanée comporte un risque théorique récemment décrit d'érythroblastopénie autoimmune liée à l'apparition d'anticorps anti-EPO agissant à la fois sur l'érythropoïétine exogène et sur l'érythropoïétine endogène : quelques cas ont été répertoriés chez des adultes dialysés en insuffisance rénale chronique. En raison de ce risque même infime, il est difficile à ce jour de recommander ce traitement en première intention chez le nouveau-né atteint de SH tant que l'on ne disposera pas d'informations complémentaire [93].



**Figure 26** : Evolution de la concentration d'hémoglobine (g/l) et des réticulocytes (g/l) en fonction de l'âge de l'enfant. Début du traitement par érythropoïétine 13 jours de vie [93].

10.1.2. Supplémentations en folate :

Il n'existe aucune donnée concernant les indications de la supplémentation en folates dans la SH. Il est préconisé une supplémentation en folates dans les formes sévères et modérés de SH, à la dose de 2,5 mg/j avant l'âge de 5 ans et de 5 mg/j après. La supplémentation n'est probablement pas nécessaire dans les autres cas [1].

Dans notre série, 100% des cas ont bénéficié d'une supplémentation d'acide folique, ceci rejoint les résultats d'Anirban Das et al (100%), et Amina Abdel Salam et al (100%) [61,62]. Aucun patient de notre étude n'a reçu un traitement chélateur du fer, de même que dans la série de Capan Konca et al [69]. Pour l'érythropoïétine, aucun patient de notre étude n'a pris d'érythropoïétine recombinée, de même que dans nombreuses études [61,62,69,71,87].

Tableau 23 : Répartition des cas ayant bénéficié d'une supplémentation d'acide folique, de chélateur de fer, et d'érythropoïétine dans différentes séries.

Auteurs	Nombre des cas ayant reçu l'acide folique	Nombre des cas ayant reçu un traitement chélateur du fer	Nombre des cas ayant pris l'érythropoïétine
Capan Konca et al [69].	70,58%	Aucun	Aucun
Anirban Das et al [61].	100%	-	Aucun
Amina Abdel-Salam et al [62].	100%	5 %	Aucun
Eun Sil Park et al [87].	57,7 %	-	Aucun
Adlette Inati et al [71].	14,7 %	7,4%	Aucun
<b>Notre étude</b>	<b>100%</b>	<b>Aucun</b>	<b>Aucun</b>

### 10.1.3. Transfusion sanguine

Une transfusion de culot érythrocytaire phénotypé et compatible doit être effectuée en cas d'anémie mal tolérée. Elle peut être salvatrice dans les crises érythroblastopéniques et dans les crises hémolytiques sévères. Il n'existe aucune étude définissant un seuil transfusionnel optimal. Le seuil du taux d'Hb recommandé pour indiquer une transfusion est généralement de 7 à 8 g/dL. Il n'y a pas d'indication à l'hypertransfusion [1]. Les indications de transfusions itératives chez l'enfant et le nourrisson doivent tenir compte des risques transfusionnels suivants [133,134]:

- Risque infectieux: l'établissement français du sang (EFS) a estimé pour l'année 2002 le risque de transmission au cours d'une transfusion (pour donneur) à 1/2500000 pour le VIH, 1/470000 pour l'hépatite B, 1/5000000 pour l'hépatite C et 1/250000 pour les infections bactériennes ;
- Risque d'alloimmunisation contre les antigènes leucoplaquettaires (transfusion de sang total non déleucocyté, non déplaqueté ou en cas de transfusion de plaquettes ou de granulocytes). Il se manifeste par une inefficacité de la transfusion (forme latente), par une réaction de frissons hyperthermiques dans les formes bénignes, par un choc pyrogénique dans les rares formes graves.
- Hémochromatose post-transfusionnelle qui est une complication tardive (et ceci puisque un litre de sang apporte 500 mg de fer et que l'excrétion quotidienne n'excède pas 100 g par jour). En plus, du fer transfusé s'ajoute le fer libéré par les GR hémolysés, le fer s'accumule en quelques années au niveau de la rate, du foie et du pancréas et donne des complications cardiaques, endocriniennes (diabète), hépatiques ou encore pigmentation cutanée allant jusqu'à menacer le pronostic vital. Elle est prévenue par l'espacement des transfusions. Elle nécessite parfois le recours à un chélateur du fer : Deferoxamine à la dose de 40mg/kg/j. L'efficacité du chélateur est majorée par une supplémentation en vitamine C à la

dose de 25 mg/kg/jour avec un maximum de 200 mg/jour et elle est jugée sur le taux de ferritine maintenue entre 500 et 1000 mg/1.

- surcharge volémique en cas de précarité cardiocirculatoire ;
- hyperkaliémie et hyponatrémie, en cas de transfusion massive.

Dans notre étude, 9 patients, soit 50% des cas ont bénéficié d'une transfusion par des culots globulaires phénotypés et compatibles, ce résultat concorde avec ceux avancés par Anirban Das, et al (55%) [61], Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (55,55%) [64]. Par contre, le nombre de transfusions est diminué dans la série de Capan Konca et al (14,7%) [69], et Eun Sil Park et al (28,4%) [87]. Dans notre série, le besoin transfusionnel augmente dans les formes modérément sévère et sévère. Ceci est également trouvé dans les séries de Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64], et de Capan Konca et al [69].

Tableau 24 : Nombre des cas transfusés dans différentes séries.

Auteurs	Pourcentage des patients transfusés	Pourcentage des transfusions selon la forme de la SH
Capan Konca et al [69]	14,7%	*0% formes légères * 11,9% formes modérées de la SH * 83,3% formes sévères
Anirban Das [61]	55%	-
Eun Sil Park [87]	28,4 %	-
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira [64]	55,55%	* 25% formes légères *60,6% modérées *84,6% sévères
Adlette Inati et al [71].	75%	-
<b>Notre étude</b>	<b>50 %</b>	<b>*0 % formes légères</b> <b>* 37,5% formes modérées</b> <b>*100% formes modérément sévères</b> <b>*100% formes sévères</b>

## 10.2. Traitements chirurgicaux :

### 10.2.1. Splénectomie

La rate constitue le site de destruction privilégié des sphérocytes. La splénectomie permet une diminution de l'hémolyse avec une augmentation franche de la durée de vie des GR qui ne se normalise, cependant, pas complètement [135].

#### A. Indications de la splénectomie :

La SH n'est pas une indication en soi à la splénectomie. Avant toute splénectomie, il est essentiel d'avoir éliminé le diagnostic de stomatocytose héréditaire, maladie constitutionnelle rare de la membrane érythrocytaire se traduisant par une anémie hémolytique modérée et se compliquant presque constamment de complications thrombo-emboliques après splénectomie. La splénectomie doit être discutée en raison de la survenue à court et à moyen terme de complications pouvant engager le pronostic vital, son indication dépend de l'importance de l'anémie et de sa tolérance clinique. Si l'on reprend la classification d'Eber et al [112], la splénectomie est indiquée dans les formes sévères, elle est souvent indiquée dans les formes modérées selon le degré d'anémie et son retentissement sur l'état général (fatigabilité) et sur la croissance, elle n'est pas indiquée dans les formes minimales et asymptomatiques [1,20,39]. La splénectomie pour rate très volumineuse se discute uniquement s'il existe une gêne fonctionnelle ou un risque important de traumatisme splénique dans les activités sportives ou professionnelles. L'indication de la splénectomie chez un patient ayant une lithiase biliaire, sans anémie profonde ou mal tolérée, est controversée. Cette indication est retenue dans les recommandations anglaises [39]. Dans l'étude de Tamary et al [136], 1 patient sur 12 splénectomisés a développé une lithiase vésiculaire 1,5 an après la splénectomie. En revanche, dans une autre étude, aucun des 17 patients splénectomisés sans cholécystectomie systématique n'a développé secondairement

de calculs biliaires sur un suivi moyen de 15 ans [137]. Il n'a pas été rapporté de récurrence de calculs biliaires dans la voie biliaire principale ou le cholédoque après cholécystectomie sans splénectomie chez les patients atteints de SH. L'analyse respective des risques de survenue de complications d'une lithiase biliaire et des risques de survenue d'un sepsis après splénectomie ne plaide pas en faveur de la réalisation d'une splénectomie pour prévenir la récurrence de lithiases biliaires. L'existence de récurrences de lithiase biliaire après splénectomie, même rares, et les risques infectieux secondaires à celle-ci nous incitent à ne pas proposer de splénectomie chez un patient porteur de lithiase biliaire, en l'absence d'indication hématologique. Différents types de splénectomie peuvent être proposées [1,20,39].

#### ▼ Splénectomie totale :

Actuellement, la splénectomie vidéo-laparoscopique faite par une équipe expérimentée semble être la technique de choix. De nombreuses séries ont été publiées et concluent à un moindre délabrement pariétal, des suites opératoires plus simples, une réduction de la durée d'hospitalisation et une diminution du coût, chez les patients bénéficiant d'un abord laparoscopique, avec des résultats identiques en termes d'efficacité et de sécurité par rapport à la splénectomie à ciel ouvert [138,139]. Le choix de la technique dépend des habitudes chirurgicales d'une équipe. La splénectomie laparoscopique a été réalisée le plus souvent selon la technique dite de « suspension splénique », en décubitus latéral droit. Le chirurgien et le premier aide étaient à droite de l'opéré. Quatre trocarts (trois de 10 mm, un de 12 mm) étaient en règle nécessaires. Après exploration de la cavité abdominale (foie, ganglions, etc.) et la recherche systématique de rates accessoires, l'angle colique gauche était abaissé et le pôle inférieur de la rate était mobilisé. Le pédicule splénique était abordé par sa face antérieure et son hémostase réalisée par agrafagemécanique. Les vaisseaux courts étaient sectionnés après hémostase par clips [1]. L'extraction de la rate, placée

dans un sac de protection plastique, était effectuée par l'orifice de trocart de 12 mm éventuellement agrandi avec ou sans fragmentation. Un drainage aspiratif ou non était laissé en place selon l'appréciation de l'opérateur. La rate était adressée pour examen anatomopathologique. Les complications telles l'anémie et la lithiase vésiculaire diminuent après splénectomie totale dans les formes sévères de SH et sont abolies dans les formes modérées. Cependant, la splénectomie totale expose les patients splénectomisés à un risque infectieux important. L'âge idéal de cette intervention se situe entre 6 et 10 ans, âge auquel les complications tardives de la SH ne sont pas encore apparues et où les complications propres à la splénectomie sont moins sévères [1].

Dans notre étude, Un seul patient, soit 5,6% des cas, âgé au moment de l'intervention de 7 ans et 2 mois a été splénectomisé pour une forme sévère de la SH avec dépendance transfusionnelle, il a bénéficié d'une vaccination (contre le pneumocoque et le méningocoque) avant la splénectomie et d'une antibiothérapie prophylactique. L'évolution est marquée par l'absence de la survenue de complications post splénectomie, avec une amélioration du taux d'Hb. Notre résultat concorde avec celui de Capan konca et al qui a rapporté que 7,3% des cas ont été splénectomisés pour des transfusions fréquentes ainsi que des formes sévères de la SH [69], l'évolution est marquée par l'absence des complications après la splénectomie.

**Tableau 25 : Indications de la splénectomie et complications après la chirurgie.**

Auteurs	Nombre des cas	Indications	Age moyen de la chirurgie	Evolution-complications
Adlette Inati et al [71].	10/360 (27,7%)	Transfusions fréquentes	-	*Thrombocytose (70%) *Infection (2,7%) *Décédé par un épisode de crise hémolytique (2,7%)
Capan konca et al [69].	5 (7,3%)	SH Sévère-transfusion fréquente	-	Aucune
Amina Abdel-Salam et al [62].	10 (25%)	80% pour une transfusion fréquente 20% des cas secondaire à un hypersplénisme	-	(90%) n'ont pas reçu de transfusion après la splénectomie. Aucune complication n'a été détectée
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64].	34,9%	Séquestration splénique chez 9 (41%) patients	7 ans	-
Anirban Das et al [137]	26 cas (32%)	Dépendance de la transfusion	7,9 ans	Infection (7,69%)
Eun Sil Park1 et al [87].	15/127 (11,81%)	Dépendance transfusionnelle	7,8 ans	*Augmentation CRP (42%), et du D-dimère (23%). *Thrombocytose (73%)
<b>Notre étude</b>	<b>5,6%</b>	<b>Transfusion dépendante SH sévère</b>	<b>7 ans et 2 mois</b>	<b>Aucune complication Régression de l'anémie</b>

▼ Splénectomie subtotale ou partielle :

La splénectomie partielle peut être proposée comme alternative à la splénectomie totale dans certaines indications et permettrait de diminuer le risque infectieux post splénectomie. Elle préserve le pôle inférieur ou supérieur de la rate après résection de 80 à 90% du volume de la rate (splénectomie partielle ou subtotale) [141], d'autres proposent une splénectomie quasi totale ne conservant que 2% du volume splénique [142]. De bons résultats ont été rapportés dans 4 petites séries incluant 5 à 40 patients (91 enfants au total) avec un recul moyen court de 2,5 à 6 ans [141,143].

La splénectomie subtotale permet de diminuer l'hémolyse (à un degré moindre qu'une splénectomie totale) et probablement de préserver la fonction splénique. Cependant, le nombre de patients est trop faible pour qu'il soit possible de conclure formellement à une protection contre les infections à germes encapsulés. Elle ne prévient pas la survenue de lithiases vésiculaires. La croissance du moignon splénique est constante, mais n'entraîne pas toujours une aggravation de l'hémolyse [141].

Une totalisation de la splénectomie est nécessaire en raison de l'aggravation secondaire de l'hémolyse. Les patients ou leurs parents doivent donc être informés du risque possible de la totalisation de la splénectomie dans un 2ème temps. Les indications de la splénectomie subtotale restent à valider. Les meilleures indications nous semblent être [1]:

-Le jeune enfant âgé de moins de 6 ans, porteur d'une SH sévère, nécessitant des transfusions répétées, ou modérée nécessitant une splénectomie, en raison du risque élevé d'infection post splénectomie à cet âge ;

- La SH d'expression hématologique modérée avec retentissement sur l'activité quotidienne.
- Une volumineuse splénomégalie

Study (year)	Patients (n)	Completion splenectomy (no. of patients)	Follow-up (years)	Comments
Rice <i>et al.</i> (2003)	25 children (HS in 16)	0	6	Although there was significant splenic regrowth on ultrasound in some of these children, none had significantly enough anemia or splenomegaly to require resection of the residual spleen out to 6 years of follow-up
Stoehr <i>et al.</i> (2006)	30 children	1	3.6	In terms of the frequency of repeat surgery, near total splenectomy would seem superior to subtotal splenectomy
Bader-Meunier <i>et al.</i> (2001)	40 children	3	10	Higher risk of remnant regrowth is seen in children with Gaucher disease [56] and HS with coexistent hemoglobinopathies [57,58]
de Buys Roessingh <i>et al.</i> (2002)	5 children	2	5	Both of these children were the youngest (<2 years of age) at the time of initial surgery, suggesting that this age might be a higher risk subgroup in children with HS
Jabali <i>et al.</i> (2007)	14 children	0	5	

HS: Hereditary spherocytosis.

**Figure 27:** Incidence de la croissance du moignon splénique dans la splénectomie subtotale [144].

### B .Complications à moyen et long terme de la splénectomie:

#### ▼ Accidents vasculaires :

A type de thrombose due à l'hyperplaquettose ou une anomalie quantitative ou encore à l'augmentation de la rigidité des GR après splénectomie, parfois des accidents ischémiques cérébraux et cardiaques ont été rapportés. L'incidence de l'infarctus du myocarde ou de crise cardiaque chez les aspléniques est 5,6 fois plus fréquente que chez les patients non splénectomisés [145]. La manifestation clinique la plus fréquente est l'embolie pulmonaire, dont la gravité et le traitement ne diffèrent pas de celles survenant après tout autre acte chirurgical. Le traitement préventif repose essentiellement sur l'administration d'anti-agrégants plaquettaires et d'héparine de bas poids moléculaire [1,146].

#### ▼ Complications infectieuses :

Parmi tous les facteurs susceptibles d'augmenter le risque de survenue d'une complication infectieuse, l'âge des patients. En effet, une méta-analyse a rapporté un taux d'infection significativement plus élevé chez les patients âgés moins de 16 ans (4,4%) que chez les patients de plus de 16 ans (0,9%). Cela a été confirmé par une seconde étude qui a rapporté un taux d'infection de 1,2% et 6% respectivement chez les patients âgés de plus et moins de 15 ans. Enfin, dans les séries pédiatriques, le taux d'infection post-splénectomie est de l'ordre de 10% chez les enfants dont l'âge est compris entre 5 et 10 ans et de 15% chez les enfants de moins de cinq ans, ce qui est supérieur aux taux habituellement rapportés chez l'adulte [1,141,142].

#### ▼ Agents infectieux responsables des infections graves post splénectomie :

Du fait de la diminution de synthèse des immunoglobulines induites par la splénectomie, les patients splénectomisés ont une plus grande vulnérabilité pour les bactéries encapsulées normalement reconnues par le système immunitaire, par leurs antigènes de membrane. Le *Streptococcus pneumoniae* est l'agent pathogène le plus incriminé dans les infections post-splénectomie avec une fréquence variant de 50 à 60%. Le deuxième germe le plus fréquent est l'*Haemophilus influenzae* qui est responsable de 20 à 30% des infections post-splénectomie. Enfin, *Neisseria meningitidis* est responsable de 10 à 20% des infections post-splénectomie. Des infections dues à d'autres bactéries comme *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* du groupe B, *Pseudomonas aeruginosa* et *Capnocytophaga canimorsus* ont été rapportées. Par ailleurs, les patients splénectomisés sembleraient plus exposés aux infections graves

dues à des protozoaires intra-érythrocytaires comme le *Plasmodium falciparum* et le *Babesia microti*.

#### ▼ Traitement anti-infectieux :

La prophylaxie anti-infectieuse au décours d'une splénectomie est l'un des points majeurs de la prise en charge des patients atteints de SH. La splénectomie entraîne un risque d'infections, principalement à pneumocoques, caractérisées par leur gravité et leur rapidité d'évolution qui peut se faire vers le choc septique et le décès [1].

#### ▼ Incidence

L'incidence des infections sévères varie considérablement d'une étude à l'autre en raison de l'hétérogénéité du recrutement de chaque étude et de leur époque de réalisation. Dans le registre pédiatrique danois des splénectomies, une infection sévère à pneumocoque a été observée chez 4% des enfants durant la période 1969–1978, et chez aucun durant la période 1979–1987 [147]. Cependant, ce risque n'est pas complètement supprimé par les vaccinations avant splénectomie et la prophylaxie anti-infectieuse post-splénectomie. Ce risque est particulièrement élevé chez les enfants de moins de 5 ans, et lors de la 1<sup>er</sup> année suivant la splénectomie mais il persiste toute la vie, des cas ont été rapportés 40 ans après la splénectomie. Chez l'adulte, 50 à 70% de ces complications infectieuses sont observées au cours des deux premières années qui suivent la splénectomie. Chez l'enfant, 80% des infections post-splénectomie surviennent au cours des 20 premiers mois postopératoires [1,147].

#### ▼ Prophylaxie

La prophylaxie anti-infectieuse repose sur l'éducation des patients et de leur famille, les vaccinations avant la splénectomie et l'antibiothérapie prophylactique. Les patients doivent être informés du risque à vie de survenue d'infection sévère, des caractéristiques des 1<sup>ers</sup> signes d'une infection, des consignes de traitement précoce

de celles-ci, de la nécessité d'une antibiothérapie précoce après morsure d'animal ou piqure de tiques, des vaccinations recommandées et de l'antibioprophylaxie [1].

Les vaccinations doivent être effectuées au moins 15 jours avant la splénectomie et comportent une vaccination antipneumococcique, antiméningococcique et contre l'*Haemophilus influenzae* b. La durée de l'antibioprophylaxie reste mal définie, mais elle est actuellement recommandée par l'ensemble des auteurs. L'antibioprophylaxie repose sur la prise de pénicilline V (Oracilline®) à la dose de 100 000 UI/kg chez les enfants de poids inférieur à 10 kg, de 50 000 UI/kg chez les enfants de poids supérieur à 10 kg en 2 à 3 prises sans dépasser 2 millions d'unités par jour, pendant au minimum 5 ans après la splénectomie. En cas de splénectomie subtotale, les vaccinations effectuées usuellement avant et après splénectomie totale sont recommandées. Il a été proposé que la prophylaxie par Oracilline® soit interrompue après l'âge de 6 ans, si la fonction phagocytaire splénique est normale. Cependant chez l'adulte, seul le vaccin pneumococcique est recommandé, ainsi il faut savoir que certaines données suggèrent que la splénectomie pourrait favoriser la survenue de complications thromboemboliques ou d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) à l'âge adulte [1].

#### 10.2.2. Cholécystectomie :

Aucune étude randomisée comparant diverses indications de la cholécystectomie n'existe. Les indications les plus consensuelles de la cholécystectomie sont :

- L'existence de complications secondaires à la présence de calculs (coliques hépatiques, douleurs abdominales récurrentes, cholécystite aiguë, cholangite, cholécystite chronique).
- L'existence d'une lithiase, même asymptomatique, au moment de la réalisation d'une splénectomie. Cependant, une cholécystendèse (ablation des calculs sans

cholécystectomie) pourrait aussi être discutée en cas de calculs asymptomatiques préopératoires, afin de préserver le métabolisme des sels biliaires [1].

La réalisation d'une cholécystectomie systématique à l'occasion d'une splénectomie est controversée en l'absence de lithiase biliaire et aucune recommandation ne peut être clairement formulée selon les données de la littérature [148]. L'indication d'une cholécystectomie en cas de lithiase asymptomatique de découverte fortuite est également sujette à discussion. Dans une étude récente, les complications secondaires à la présence de calculs ne sont observées que chez 35 % de patients adultes porteurs de lithiase sur un suivi à long terme [149]. Une intervention chirurgicale peut donc être également proposée mais non imposée en cas de calculs asymptomatiques, en tenant compte des caractéristiques et du nombre des calculs. Dans notre série, deux patients, soit 11,1% des cas, ont bénéficié d'une cholécystectomie, l'âge moyen de l'intervention chirurgicale est de 9 ans, ces résultats sont assez proches de ceux avancés par Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al (15,9% des cas ont été cholécystéctomisés à un âge moyen de 12 ans) (tableau 27) [64].

**Tableau 26** : Nombre des patients cholécystéctomisés dans différentes séries.

Auteurs	Cholécystéctomie	Age moyen d'intervention
Capan conca et al [69].	1/68 (1,5%)	12 ans
Maria Christina Lopes Araujo Oliveira et al [64].	10 (15,9%)	12 ans
Anirban Das, Deepak Bansal et al [137].	1/82 (1,1%)	-
Amina Abdel-Salamet al [62].	1/40 (2,5%)	4 ans
<b>Notre étude</b>	<b>2 (11,1%)</b>	<b>9 ans</b>

## 11. EVOLUTION ET COMPLICATIONS:

L'évolution spontanée de la maladie se fait sur un mode chronique. L'anémie de base est souvent bien tolérée du fait d'une hémolyse compensée. Les patients atteints de la SH sont sujets à diverses complications : crise de déglobulisation, lithiase biliaire, retard de croissance et de développement et plus rarement l'ulcère des jambes et l'hématopoïèse extra-médullaire. La plupart de ces complications sont dues à l'hyperplasie érythroïde, conséquence de l'hémolyse chronique [1,2].

### 11.1. Crises de déglobulisation :

Les crises de déglobulisation constituent une cause considérable de morbidité par leur sévérité et leur fréquence de survenue. Elles apparaissent aussi bien dans les formes atténuées que dans les formes anémiques chroniques. On distingue deux types :

#### ▼ Les crises hémolytiques aiguës :

Ces crises résultent d'une exacerbation brutale de l'hémolyse des GR déclenchées par une infection intercurrente, voire l'émotion, le froid, la grossesse mais souvent aucune cause déclenchant n'est relevée. Elles se manifestent cliniquement par: des frissons, la fièvre, les palpitations, des nausées et des vomissements la majoration de l'ictère, des douleurs lombaires et abdominales, et des douleurs et gonflement de la rate et du foie. Biologiquement, une anémie importante apparaît avec des signes d'hyperdestruction globulaire et parfois une hémoglobininémie ainsi qu'une hémoglobininurie. L'hypermélocytose est majeure. L'évolution après transfusion est habituellement favorable. Cette transfusion n'est pas toujours nécessaire. Ainsi, dans les formes atténuées, l'évolution des crises est résolutive en une dizaine de jours [94,150].

- ▼ Les Crises de déglobulisation aiguë par érythroblastopénie ou encore crises aiguës aplasiques :

Elles résultent d'une aplasie médullaire transitoire connue sous le nom d'érythroblastopénie ou syndrome d'Owren-Gasser. Le parvovirus B19 est l'agent principal responsable de ces crises érythroblastopéniques. Il faut cependant noter que d'autres agents, probablement viraux, peuvent être en cause. Le parvovirus B19 se transmet principalement par voie aérienne, plus rarement par voie verticale ou par voie sanguine.

Au plan physiopathologique, l'érythroblastopénie induite par le parvovirus B19 (virus à ADN sans enveloppe) est due à une affinité particulière de ce virus pour les précurseurs de la lignée rouge. Cette affinité vient de l'expression préférentielle du récepteur membranaire du parvovirus B19, appelé globoside (glycosphingolipide neutre), par les progéniteurs érythrocytaires et les érythroblastes. La réplication virale s'effectue dans les cellules en division envers lesquelles ce virus présente une activité cytolytique directe. Le parvovirus B19 est capable d'inhiber la prolifération des précurseurs érythrocytaires *in vitro* (inhibition de la formation de colonies érythrocytaires CFU-E et BFU-E), ce qui le rend responsable d'une anémie aiguë profonde *in vivo* chez les patients ayant un haut niveau de renouvellement de la lignée rouge. Une apoptose des progéniteurs érythrocytaires passant par l'activation du *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) serait un mécanisme cytolytique également utilisé par ce virus. La sortie d'érythroblastopénie survient habituellement entre le 7<sup>e</sup> et le 14<sup>e</sup> jour. Une discrète leucopénie et une thrombopénie peuvent être transitoirement observées. L'infection par le parvovirus B19 entraînant la production d'anticorps protecteurs et une immunité durable, les patients sont protégés et n'ont pas de nouvelle crise d'érythroblastopénie au cours de leur existence [94,150].

La présentation clinique habituelle de la primo-infection par le parvovirus B19 chez l'enfant est le mégalérythème épidémique (ou 5e maladie). Chez l'adulte immunocompétent, la primo-infection par le parvovirus B19 peut être asymptomatique ou être responsable d'un tableau pseudogrippal avec des arthralgies. Le diagnostic repose sur le contexte et peut être confirmé par la mise en évidence de particules virales ou de l'ADN viral dans le plasma et surtout, en pratique, par la détection dans le sérum d'anticorps IgM spécifiques anti-pavovirus B19, témoignant d'une infection récente par ce virus. À la phase aiguë de l'infection, le myélogramme révèle généralement la présence de pro-érythroblastes géants (qui sont des précurseurs érythrocytaires précoces caractérisés par une vacuolisation cytoplasmique, une chromatine immature et des inclusions nucléaires éosinophiles). L'évolution spontanée se fait vers la guérison en 10 à 15 jours mais l'intensité de l'anémie nécessite souvent des transfusions [94,150].

Dans notre étude, les crises d'érythroblastopénies n'ont pas été notées. Dans la littérature, ces crises sont rapportées dans 1,4 à 14,28% des cas [60,64,69].

### 11.2. Lithiase biliaire :

La prévalence de la lithiase biliaire chez l'enfant est difficile à préciser car elle est souvent asymptomatique. Bien qu'il y ait peu de données épidémiologiques dans la population générale pédiatrique, sa prévalence peut être estimée entre 0,13 et 2% [151], elle augmente avec l'âge sans prédominance selon le sexe jusqu'à l'âge de 14 ans, puis au-delà, il existe une prédominance féminine. Elle est fréquente dans la SH et dans les autres types d'anémie chronique hémolytique. Classiquement, 38% des enfants atteints de SH développent une lithiase biliaire avant l'âge de 13 ans. Selon les études de Bates et al, Kruger et al, Rutkow et al, et Croom et al, l'incidence de la lithiase biliaire augmente après l'âge de 10 ans [59].

Les calculs biliaires sont souvent de nature pigmentaire composée principalement de polymères de bilirubine non conjuguée ou de bilirubinate de calcium. La lithiase biliaire est de siège vésiculaire dans 80 à 90% des cas, mais elle peut être située au niveau du canal cholédoque de façon non exceptionnelle. Le risque de lithiase est majoré lorsque qu'un syndrome de Gilbert est associé. Chez l'enfant, la lithiase biliaire est souvent asymptomatique et n'est découverte que lors de l'exploration systémique ou uniquement lors de la laparotomie.

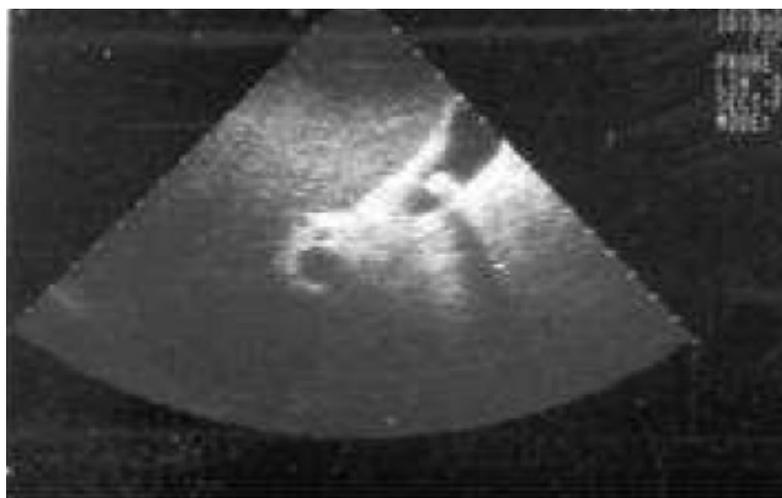
Dans notre série, 3 cas de sexe féminin soit 16,7% des cas, ont présenté une lithiase biliaire. Deux patientes avaient une lithiase biliaire asymptomatique, et une patiente avait une cholécystite associée à une lithiase de la voie biliaire principale. Chez l'adulte, elle se manifeste par des coliques hépatiques, souvent accompagnées de nausées, de vomissements et parfois d'un ictère. L'échographie est l'examen de référence et permet dans la majorité des cas d'affirmer le diagnostic de la lithiase biliaire et de préciser son siège. Elle fait partie du bilan chez les patients devant être splénectomisés et son existence est, à elle seule, une indication de splénectomie associée à une cholécystectomie. Il est rare d'avoir recours à d'autres explorations radiologiques dans un but diagnostique. Une lithiase biliaire peut se compliquer d'angiocholite, la choléstase peut se rajouter à un ictère hémolytique (hyperbilirubinémie libre) [136].

En cas d'un ictère à bilirubine mixte, il faut penser à une lithiase cholédocienne et à une hépatite post-transfusionnelle.

Tableau 27 : Incidence de la lithiase biliaire dans différentes séries.

Auteurs/années	Nombre des patients	Nombres des cas avec une lithiase biliaire	Age (ans)	
			<10	>10
Bates and Brown, 1952	93	40 (43%)	1	39
Kruger and Burgert, 1966	81	8 (10%)	4	4
Rutkow, 1981	58	12 (21%)	1	11
Croom et al, 1986	23	6 (26 %)	2	4
Notre étude	18	3 (16,7%)	1	2

- Tous les patients ont un âge inférieur à 15 ans.

Figure 28 : Echographie abdominale montrant une lithiase biliaire [152].

### 11.3. Retentissement sur la croissance et le développement :

Dans les formes sévères, des lésions du squelette, analogues mais moins marquées que celles observées au cours de la thalassémie, sont présentes. Elles sont associées à des troubles du développement staturo-pondéral, des déformations crânio-faciales caractéristiques (acrocéphalie, déformations du faciès). Le rachis et le bassin peuvent être atteints, des foyers d'hématopoïèse extramédullaire ont été rapportés [153].

#### 11.4. Ulcère de la jambe et pyoderma gangrenosum :

L'ulcère de la jambe est une complication rare de la SH, survenant chez moins de 2% des cas. Il a été rapporté principalement chez l'adulte jeune, très rarement chez l'enfant. La pathogénie de l'ulcère de la jambe dans la SH est incertaine. Les sphérocytes libèrent l'oxygène en quantité affaiblie entraînant une anoxie tissulaire dans les zones mal vascularisées. Elles diminuent également le flux sanguin dans les capillaires étroits de la peau, ceci contribue à une déficience de la nutrition de la peau et donc la survenue des ulcérations. Après la splénectomie, la population érythrocytaire améliore l'oxygénation des tissus ce qui renforce la guérison de l'ulcère malgré la persistance de cicatrices sidérosiques.

L'ulcère de la jambe est généralement bilatéral, localisé au niveau des jambes, en région malléolaire, et peut s'étendre à toute la circonférence de la cheville, il est peu suintant mais très hémorragique. Le plus souvent indolore et résistant à toutes thérapies locales ou générales [154].

Pyoderma gangrenosum est une maladie cutanée récurrente rare de la peau, elle se manifeste cliniquement par des lésions: ulcéreuses, bulleuses, pustuleuses et végétatives. Il se produit principalement chez les adultes et est fréquemment associée à des maladies systémiques le plus souvent maladies inflammatoires de l'intestin, et la polyarthrite auto-immune. En Corée, selon une étude récente de Hyung Il Kwon et al (2016), un enfant âgé de 15 ans a présenté un pyoderma gangrenosum avec une SH sous-jacente, on ne sait pas si cela est une simple coïncidence ou s'il y a un lien de causalité entre les deux maladies. Les cliniciens, notamment les dermatologues et pédiatres, doivent être conscients que les patients atteints de SH peuvent développer un pyoderma gangrenosum [155].



**Figure 29** : Photos montrant : (A) Deux grands ulcères polycycliques sur la partie inférieure de la jambe gauche. (B) lésion Superficielle hémorragique se produisant sur la peau adjacente au bout de 2 mois de traitement. (C) La guérison complète de la lésion après 5 mois de traitement [155].

### 11.5. Manifestations diverses

#### ▼ L'hématopoïèse extra-médullaire (HEM)

C'est une complication rare de la SH, définie par la présence ectopique du tissu hématopoïétique. L'HEM peut être localisée dans tous les organes mais ses localisations les plus fréquentes sont le foie, la rate, et les zones para-vertébrales. Rarement, on peut observer une atteinte rénale ou péri-rénale [156].

#### ▼ Hémochromatose :

Cette complication a été rapportée chez un certain nombre d'adultes atteints de la SH non splénectomisés ou splénectomisés tardivement en l'absence de transfusionssanguines ou de suppléments en fer. Un génotype hétérozygote pour la mutation responsable de l'hémochromatose a alors été incriminé [157].

Autres complications peuvent survenir exceptionnellement en cas de SH:

- L'infarctus splénique.
- Le carcinome primitif de la vésicule. Quelques rares cas d'ischémie cérébrale.

## 12. SUIVI MEDICAL ET BIOLOGIQUE :

### 12.1. Durant la période néonatale :

La surveillance clinique et hématologique doit être particulièrement attentive, du fait de la diminution rapide du taux d'hémoglobine, le plus souvent normal à la naissance. Des explications concernant les signes de mauvaise tolérance clinique doivent être données aux familles : somnolence anormale, mauvaise succion ou essoufflement lors de la prise des biberons. La surveillance de la tolérance de l'anémie et la surveillance, au moins hebdomadaire, de l'hémogramme doivent être recommandées chez le nouveau-né jusqu'à obtention d'un taux d'hémoglobine stable bien toléré cliniquement et d'un taux de réticulocytes en rapport avec l'anémie. Une supplémentation précoce en fer et en folates est à discuter. Un suivi régulier par un pédiatre hématologue, en lien avec le pédiatre traitant est nécessaire. Une vaccination contre l'hépatite B doit être proposée dans tous les cas [1,97].

### 12.2. Chez l'enfant en dehors de la période néonatale

Une consultation d'hématologie pédiatrique est nécessaire une à trois fois par an en fonction de la sévérité de la maladie chez les enfants avec un taux d'Hb inférieur à 10 g/dl. Elle comporte une appréciation de la fatigabilité, des performances scolaires, du nombre quotidien d'heures de sommeil, de la taille de la rate, la recherche d'une douleur provoquée de l'hypochondre droit et d'un ictère conjonctival. Le rythme de la réalisation d'une NFS est en fonction de la symptomatologie clinique. Dans les autres cas, un suivi par un hématologue pédiatre et une surveillance de l'hémogramme tous les ans à tous les 2 ans, ou en cas de signe d'accentuation de l'anémie, est préconisé. Après splénectomie, un suivi clinique annuel est recommandé, des explications doivent être données aux familles sur la maladie et ses complications potentielles :

\*L'aggravation de l'anémie et/ou la survenue d'une anémie aiguë, pouvant nécessiter une transfusion, la valeur de la réticulocytose doit être expliquée aux parents afin qu'ils puissent distinguer une « simple » accentuation de l'hémolyse, le plus souvent bien tolérée, et un contexte d'érythroblastopénie, qui impose le plus souvent une transfusion.

\*La survenue de la lithiase vésiculaire et le risque d'angiocholite. L'échographie biliaire doit être effectuée en cas de symptomatologie clinique évocatrice de lithiase; elle sera systématique à partir de l'âge de 4 ans et répétée avec un intervalle de 1 à 3 ans et avant splénectomie. Enfin, le diagnostic chez un patient implique une enquête familiale et la réalisation d'un arbre généalogique [1,97].

### 12.3. Chez l'adulte :

Les consultations annuelles ne sont pas recommandées dans les formes modérées de la SH, il est primordial de surveiller l'apparition des signes cliniques évocateurs de la lithiase vésiculaire et d'assurer un suivi post-splénectomie (revaccination, antibioprofylaxie). Un bilan martial est préconisé une fois par an chez les patients non splénectomisés afin de prévenir l'hémochromatose [1,97].

# CONCLUSION

La SH est une anémie hémolytique courante d'expression clinique polymorphe. Elle expose une physiopathologie moléculaire complexe. Grâce à la génétique moléculaire, de nouvelles données diagnostiques ainsi que de nouveaux éléments d'explication physiopathologique qui ont, de fond en comble, modifié la compréhension de la maladie. La SH est actuellement entrée dans l'ère de la génétique moléculaire sur une base routinière.

Son diagnostic repose de façon bien classique sur des signes cliniques et/ou et une anomalie décelée lors du compte des GR par les automates. Ce diagnostic est conforté par la présence de cellules hyperdenses et par l'augmentation de la fragilité globulaire affirmée par les méthodes classiques ou par l'éktacytométrie.

La SH est une maladie bénigne compatible avec une espérance de vie à peu près normale, son évolution peut entraîner une série de complications potentielles : crise d'érythroblastopénie, lithiase biliaire, retard de croissance et de développement et plus rarement l'ulcère des jambes et l'hématopoïèse extra-médullaire [1]. Les conséquences de la maladie sur la vie quotidienne dépendent bien évidemment de la sévérité de la maladie et de ses manifestations. Cependant la SH ne met particulièrement jamais le pronostic vital en jeu, et elle n'entraîne pas des restrictions particulières ou des modifications radiales du mode de vie [75].

Les études relatives à la SH chez l'enfant font défaut au Maroc. Chez l'enfant, elle constitue un champ d'analyse fécond pour les médecins marocains. Notre pays doit ainsi mobiliser ses chercheurs en médecine pour étudier cette maladie afin de connaître son incidence et son ampleur ainsi que d'appréhender les techniques récentes de son diagnostic.

# RESUMES

## RESUME

La maladie de Minkowski Chauffard ou la sphérocytose héréditaire (SH) est une anémie hémolytique corpusculaire congénitale de transmission autosomique dominante. Elle est très hétérogène dans ses aspects moléculaires et cliniques. Cette affection peut entraîner une série de complications: crise d'érythroblastopénie, lithiase biliaire, retard de croissance et de développement et plus rarement l'ulcère des jambes et l'hématopoïèse extra-médullaire.

Ce travail est une étude rétrospective portant sur tous les cas de la SH suivis au sein de l'unité d'hémato-oncologie du service de Pédiatrie du CHU Hassan II de Fès, sur une période de 5 ans (du Janvier 2011 à Janvier 2016). Notre objectif est d'étudier les aspects épidémio-cliniques, paracliniques, thérapeutiques et évolutifs de la SH à travers nos patients.

Nous avons colligé durant cette période 18 cas atteints de la SH, âgés entre 2 mois et 13 ans avec une moyenne de 7 ans et un sexe ratio (H/F) de 1,25. Les circonstances de découverte ont été une pâleur cutanéomuqueuse (38,9% des cas), un ictère cutanéomuqueux (27,8%), un syndrome anémique (22,2%), un dépistage (5,6% des cas), et une lithiase biliaire (5,6%). Au diagnostic, la symptomatologie est représentée par une pâleur cutanéomuqueuse dans 88,9% des cas, une splénomégalie dans 66,7% des cas, un ictère cutanéomuqueux dans 38,9% des cas, un retard staturo pondéral dans 11,1% des cas, et une dysmorphie faciale dans 5,6%. Sur le plan biologique, l'anémie a été présente dans 82,4% des cas avec une valeur moyenne du taux d'hémoglobine de 8,5 g/dl, elle est normocytaire dans 50% des cas, normochrome dans 74,4% des cas et régénérative dans 81,8% des cas. La maladie a été confirmée par le test de la résistance globulaire dans 100% des cas. Sur le plan thérapeutique, 50% des patients ont bénéficié d'une transfusion de culots globulaires,

100% des cas ont bénéficié d'une supplémentation en acide folique. Un patient (5,6%) a été splénectomisé, et deux cas (11,1%) ont été cholécystéctomisés. Les complications sont représentées par des crises d'hémolyses dans 38,3% des cas, une lithiase biliaire dans 16,7% des cas, et 11,1% des cas sont perdus de vue.

A la lumière de ces résultats, la SH est une maladie fréquente chez l'enfant avec un risque de complications parfois mortelles, mais elle reste une maladie évitable grâce au conseil génétique.

## ABSTRACT

The Minkowski Chauffard disease or hereditary spherocytosis (HS) is a congenital autosomal dominant hemolytic corpuscular anemia. It's very heterogeneous in its molecular and clinical aspects. It can cause a number of complications: crisis of erythroblastopenia, cholelithiasis, growth failure, leg ulcer and extramedullary hematopoiesis.

This work is a retrospective study of all cases of HS followed within the unit of Pediatric hematology-oncology department of university hospital center Hassan II of Fez, over a period of 5 years (from January 2011 to January 2016). Our goal is to study the epidemiological, clinical, paraclinical, treatment and outcome of hereditary spherocytosis through our patients.

We collected during this period 18 cases of HS aged from 2 month to 13 years with an average of 7 years and a ratio sex (F/H) of 1.25. The circumstances of discovery were pallor (38.9% of cases), jaundice (27.8% of cases), anemic syndrome (22.2% of cases), a screening (5.6% of cases), and a biliaire stone (5.6% of cases). The clinical symptoms at diagnostic were reported as pallor in 88.9% of cases, splenomegaly in 66.7% of cases, jaundice in 38.9% of cases, growth retardation in 11.1% of cases and facial anomalies in 5.6% of cases. The anemia was present in 82,4% of cases with an average hemoglobin of 8.5 g/dl, it is normocytic in 50% of cases, normochrome in 74.4% of cases, and regenerative in 81.8% of cases. The disease was confirmed by the globular resistance testing in all cases. Blood transfusion was the palliative treatment, 50% of patients received a red blood cell transfusion, 100% of cases received oral folate. One patient (5,6%) underwent splenectomy, tow cases (11.1%) underwent cholecystectomy. The complications are presented by hemolytic crises in 38.3% of cases, cholelithiasis in 16.7% of cases, and 11.1% of cases are lost.

In the light of these results, hereditary spherocytosis is a common and serious children's disease with a risk of life-threatening complications, but it is preventable through genetic counseling.



# REFERENCES

- [1]: Guitton, C., Garçon, L., Cynober, T., et al, hereditary spherocytosis: Guidelines for the diagnosis and management in children. *Elsevier Masson SAS*. Septembre 2008, 15, 9, 1464-1473.
- [2]: Cynober, T., Mielot, F., Tchernia, G., et al. La sphérocytose héréditaire. *Revue Française des Laboratoires*. 2000, 324, 45-49.
- [3]: Bolton-Maggs P.H.B., Langer J. C., Iolascon, A., et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology*. 2001, 156, 37-49.
- [4]: Perrotta, S., Gallagher, PG., and Mohandas, N., Hereditary spherocytosis. *Lancet*. 2008, 372, 1411-1426.
- [5]: Hajdu, S.I., The discovery of Blood. *Annals of clinical laboratory science*. 2003, 33, 2, 174-176.
- [6]: Doubek, M., Discovery of blood cells in the 17 th century. *Vnitr Lek*. August 2001, 47, 7, 496-499.
- [7]: Delaunay, J., and Dhermy D., Le squelette érythrocytaire et les maladies génétiques de la forme du globule rouge. *Médecine/Sciences*. 1990, 6, 562-570
- [8]: Aguilar-Martinez, P., Erythrocytes. *Faculté de Médecine Montpellier, Nîmes*. Janvier 2007.
- [9]: Degenne, M., and Binet, C., Erythrocyte normal : morphologie, structure, composition chimique, métabolisme érythrocytaire. *Rev*. Novembre 2009.
- [10]: Kessler, G. M., et al. The red cell membranes, part 1: the role of the red cell membrane. *Clinical Advances in hematology & Oncology*. Issue 8 August 2014, 12.
- [11]: An X., and Mohandas, N., Disorders of red cell membrane Blackwell. *British Journal of Hematology*. 2008, 141, 367-375.

- [12]: Delaunay, J., The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev.* 2007, 21, 1-20.
- [13]: Architecture des lipides membranaire « [www.ured-douala.com](http://www.ured-douala.com) ».
- [14]: Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al. *Molecular biology of the cell. 4<sup>th</sup> edition* Garland science. 2002.
- [15]: Boivin, P., Structures, métabolismes et physiologie des globules rouges humains. *Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS.* 1994.
- [16]: Mohandas, N., and Gallagher, P.G., Red cell membrane: past, present, and future. *Blood.* 15 November 2008; 112, 10, 3939-3948.
- [17]: Xabier Contreras, F., Sanchez-Magraner, L., Alonso A., et al. Transbilayer (flip flop) lipid motion and lipid scrambling in membranes. *FEBS letters Elsevier.* 3 may 2010, 584, 9, 1779-1786.
- [18]: Lodish, H., Berk, A., et al. *Molecular Cell Biology, 4<sup>th</sup> edition.* W.H. Freeman and Company. 2000.
- [19]: Leray C., Les lipides dans le monde vivant. *Amazon France.* 2010, 206-220.
- [20]: Williamson R.C., and Toyne, A.M., Glycophorin A: Band 3 aid. *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2008, 41, 35-43.
- [21]: Karp, G., *Biologie cellulaire et moléculaire. 3<sup>e</sup> édition* Amazon France. 2010, 133-138.
- [22]: Bader Meunier, B., et al. Maladie de la membrane du globule rouge. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie.* Juin 2001, 4, 217-222.
- [23]: Bichis, M., and Huber, A.R., Les maladies héréditaires de la membrane érythrocytaire: du tableau clinique aux mécanismes génétiques et moléculaires sous-jacents. *Annales de Biologie Clinique.* 2000, 3, 58, 277-289.
- [24]: Nicolas, G., et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liverhepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002, 99, 4596-4601.

- [25]: Maciag, M., Płochocka, D., Anna Salach, A., et al. Novel beta-spectrin mutations in hereditary spherocytosis associated with decreased levels of mRNA Blackwell. *British Journal of Haematology*.2009, 146, 326–332.
- [26]: Rank, G., Sutton, R., Marshall, V., et al. Novel roles for erythroid Ankyrin-1 revealed through an ENU- induced null mouse mutant. *Blood*.2009, 113, 14, 3352-3362.
- [27]: Fattoum, A., L'actine cytosquelettique et ses protéines associées I. Analyse fondamentale. Médecine/sciences. 2001, 2, 1, 193-197.
- [28] : Gascard, P., Choquet, S., Mohandas, N., Protéine 4.1 : la famille s'agrandit. *Hématologie*.1999. 6, 5, 439-446.
- [29]: Diakowski, W., Grzybek, M., and Sikorski, A.F., Protein 4.1, a component of the erythrocyte membrane skeleton and its related homologue proteins forming the protein 4.1/FERM superfamily. *Folia Histochem Cytobiol*.2006, 44, 4, 231-248.
- [30]: Rybicki, A., Schwartz, R., Hustedt, E., et al. Increased rotational mobility and extractability of band 3 from protein 4.2-deficient erythrocyte membranes: evidence of a role for protein 4.2 in strengthening the band 3-cytoskeleton linkage. *Blood*. 1996, 88, 2745 -2753.
- [31]: Anong, W.A., Franco, T., Chu, H., et al. Adducin forms a bridge between the erythrocyte membrane and its cytoskeleton and regulates membrane cohesion. *Blood*.2009, 9, 114, 1904-1912.
- [32]: Chen, H., Khan, A.A., Liu, F., et al. Combined deletion of mouse Dematin-Headpiece and  $\beta$ -Adducin exerts a novel effect on the Spectrin-Actin Junctions leading to erythrocyte fragility and hemolytic Anemia. *The journal of biological chemistry*. 2007, 6, 282, 4124-4135.
- [33]: Tse W.T., and Lux S.E., Red blood cell membrane disorders. *British Journal of Haematology*. 1999, 104, 2-13.

- [34]: Guizouarn, H., Martial, S., Borgese, F., Propriétés inattendues de l'échangeur anionique du globule rouge. *Médecine/sciences*. 2006, 10, 22, 824-825.
- [35]: Da Costa L., Galimand J., Fenneteau O., et al. Hereditary spherocytosis, eliptocytosis, and other red cell membrane disorders. *Blood Rev*. Jul 2013, 27, 4, 167-178.
- [36]: Orkin, S.H., Nathan, D.G., and Ginsburg, D., Hematology of infancy and childhood. *Elsevier Health Sciences*. 2009, 1, 729-730.
- [37]: Inaba, M., Yawata, A., Koshino, I., et al. Defective anion transport and marked spherocytosis with membrane instability caused by hereditary total deficiency of red cell band 3 in cattle due to a nonsense mutation. *The Journal of Clinical Investigations*. 1996, 97, 1804-1817.
- [38]: Gregor, P., Hromec, A., Jakubovský, J., et al. The spleen in hereditary spherocytosis. *Ceskpatol*. 1996, 32, 1, 7-11.
- [39]: Caprari, P., Bozzi, A., Ferroni, L., Oxidative erythrocyte membrane damage in hereditary spherocytosis. *Biochemistry International*. 1992, 26, 265-274.
- [40]: Rocha, S., Costa, E., Catarino, C., et al. Erythropoietin levels in the different clinical forms of hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology*. 2005, 131, 534-542.
- [41]: Vanlair, C., and Masius, J.R., De la microcytémie. *Bull Acad R Med Belg*. 1871, 5, 515-611.
- [42]: Binet, J.L., Histoire de la sphérocytose congénitale. *Rev Fr Hematol*. 1981, 23, 177-184
- [43]: Dacie, J., The hereditary hemolytic anemias, *Third Edition, Edinburgh : Churchill Livingston*, 1985, Part I, 134-215

- [44]: Minkowski, O., Ueber eine hereditäre, untere Bilde eines chronischen icterus mit urbilinurie, splenomegalie, und Nieren-Siderosis Verlangende Affection, 18ème congrès de médecine interne, Lu : Verb. Ges. Innerer Medizin. Wiesbaden. 1900, 316-321
- [45]: Chauffard, M.A., Pathogénie de l'ictère congénital de l'adulte. *Sem Med (Paris)*. 1907, 27, 25-29
- [46]: Dacie, J., Familial Haemolytic anemia (Acholuric Jaundice) with particular reference to changes in fragility produced by splenectomy. *Quart J Med NS*. 1943, 12, 101-118.
- [47]: Lebrun, Ph., La maladie de Minkowski Chauffard chez le nouveau-né. *Thèse du 19 mars 1962 Travail de la clinique infantile de Lille*. Professeur BRETON.
- [48]: Boivin, P., Anémie hémolytique congénitale. *Encycl Med Chir (Paris France) Sang*. 1989, 7, 13006 D10.
- [49]: Eighth Annual, P., Aggeler, M., Hereditary Spherocytosis Revisited. *Medical Staff Conference, University of California, West J Med*. 128, 3545, Jan 1978.
- [50]: Bolton-Maggs P.H.B., Stevens, R.F., Dodd, N.J., et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology*. 2004, 126, 455-474.
- [51]: Kline, A.H., and Holman, G. H., Hereditary spherocytosis in the negro. *AMA Am J Dis Child*. 1957, 94, 6, 609-615.
- [52]: Shah, S., and Vega, R., Hereditary spherocytosis, *Pediatrics in Review*, may 2004, 25, 5, 168-172.
- [53]: Zerhouni, F., Guetarni, D., Henni, T., et al. Occurrence and characteristics of hereditary spherocytosis in Algeria. *Eur J Haematol*. 1991, 47, 42-47.

- [54]: Eber, S., et al. Spherocytic anemia recommendations from the society for diagnosis and therapy of haematological and oncological diseases. February 2012. ([www.onkepedia-guidelines.info](http://www.onkepedia-guidelines.info)).
- [55]: Chao Wang, Yazhou Cui<sup>1</sup>, Yan Li<sup>1</sup>, et al. A systematic review of hereditary spherocytosis reported in Chinese biomedical journals from 1978 to 2013 and estimation of the prevalence of the disease using a disease model. *Intractable & Rare Diseases Research*. 2015, 4, 2, 76-81.
- [56]: Morton, N.E., Mackinney, A., and Kosowver, N., et al. Genetics of Spherocytosis. Aug 1961. *Supported in part by a grant from the National Institutes of Health*.
- [57]: Thèse de wafaeLahcini, W., et al. Aspects Diagnostiques et épidémiologiques de la sphérocytose héréditaire au Maroc 2002. *Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat*.
- [58]: MT Koh, SC Ng. Hereditary spherocytosis: A study of 16 patients from university. *Singapore Med J*. 1991, 32, 67-69
- [59]: Croom, R.D., McMillan C.W., Orringer, E.P., et al. Hereditary spherocytosis Recent Experience and Current Concepts of Pathophysiology. July 1985, 203, I, 34-39.
- [60]: Jensson, O., Jónasson, J.L., Magnússon, S., Studies on Hereditary Spherocytosis in Iceland. *Acta Med Scand*. 1977, 201, 3, 187-195. 201.
- [61]: Das, A., Bansal, D., Das, R., et al. Hereditary Spherocytosis in Children: Profile and Postsplenectomy Outcome. *Indian Pediatrics*. 2014, 51, 139-141.
- [62]: Abdel-Salam A., Natural History of Hereditary Spherocytosis Among Egyptian Pediatric Patients. *Med. J. Cairo Univ*. December 2011, 79, 1, 633-637.
- [63]: HeeJoung Choi, JiHye Lee, Kun Soo Lee, et al. The Aplasic Crisis of Hereditary Spherocytosis due to Parvovirus B19 Infection. *Clin Pediatr Hematol Oncol*. 2006, 13, 22-31.

- [64]: Maria Christina Lopes Araujo Oliveira, Rachel Aparecida Ferreira Fernandes, Carolina Lins Rodrigues, et al. Clinical course of 63 children with hereditary spherocytosis: a retrospective Study. *Rev Bras Hematology*. 2012, 34, 1, 9-13
- [65]: Nassar, S., El-Beshlawy, A., and Abdel-Hady, S., Molecular defects of red blood cell membrane proteins among Egyptian children with hereditary spherocytosis. *Laboratory Hematology*.1998, 269-275.
- [66]: Palek, J., Erythrocyte and their disorders: Editorial overview.*J.W, Current Science*.1993, p.33.
- [67]: Palek, J., and Jarolim, P., Red cell membrane disorder. In: Hoffman, R., Benz, E., Shattil, S.,et al. (eds) *Haematology: Basic Principals and Practice*. *Edinburgh, Churchill Livingstone*. 1995, p. 672.
- [68]: Miller, D.R., and Chang, H.,Haemolytic anaemias: Membrane defects. In: Miller, M., Baehner, R.L., (eds) *Disease of Infancy and Childhood*. *St. Louis, MO, Mosby*.1990, p.358.
- [69]: Konca, C., Soker, M., Tas, M.A. ,et al.Hereditary Spherocytosis: Evaluation of 68 Children. *Indian J Hematol Blood Transfus*. Jan-Mar 2015, 31, 1, 127-132.
- [70]: Bovin, P., Membrane érythrocytaire, hématologie de Bernard Dreyfus. *Edition Flammarion*. 1992, 76-89.
- [71]: Inati, A., et al. Letter to the editor a multicenter study on the Lebanese experience with hereditary spherocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2014, 61, 1895-1896.
- [72]: Delaunay, J., Anémies hémolytiques d'origine membranaire. *Encyclopédie Médico Chirurgicale (Elsevier Paris), Hématologie*, 13-006-D-05, 1999, p.7.
- [73]: Pasternak, J.J., Génétique moléculaire humaine: une introduction aux mécanismes des maladies. *Amazon France*. 2003, 104-106.
- [74]: Stenson, P.D., Ball, E.V., Mort, M., et al.Human gene mutation database (HGMD): 2003 update. *Human Mutation*. 2003; 21: 577- 581.

- [75]: Encyclopédie Orphanet Grand Public. La sphérocytose héréditaire. [www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/SpherocytoseHereditaire-FRfrPub3252v01.pdf](http://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/SpherocytoseHereditaire-FRfrPub3252v01.pdf) | Septembre 2007.
- [76]: Agre, P., Asimos, A., Castella, J.F., et al. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as the reflection of erythroid spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. *N Engl J Med.* 1986, 315,1579-1583
- [77]:Tse, W.T.,Gallagher ,P.G., Jenkins, P.B., et al.Aminoacid substitution in alpha-spectrin commonly co-inherited with non dominant hereditary spherocytosis. *Am J Hematol.*1997, 54, 233-241.
- [78]: Hassoun, H., and Palek, J., Hereditary spherocytosis: review of the clinical and molecular aspects of the disease.*Blood Rev.* 1996,10,129-147.
- [79]: Gallagher, P.G.,and Ferriera, J.D.S., Molecular basis of erythrocyte membrane disorders. *Current Opinion in Hematology.* 1997,4,128-135.
- [80]: Wichterle H., Hanspal M., Jet P., et al. Combination of two mutant alpha-spectrin alleles underlies a severe spherolytic hemolytic anemia. *J Clin Invest.* 1996, 98,2300- 2307.
- [81]: Miraglia Del Giudice E., Lombardi C., Francese M., et al. Frequent de novo monoallele expression of beta spectrin gene (SPTB) in children with hereditary spherocytosis and isolated spectrin deficiency. *Br J Haematol.* 1998, 101, 251-254.
- [82]: Becker, P.J., Tse, W.T., Lux, E., et al., Beta-spectrine Kissimee: spectrin variant associated with autosomal dominant hereditary spherocytosis and defective binding to protein 4.1.*J Clin Invest.* 1993, 92, 612-616.

- [83]: Hassoun, H., Vassiliadis, J.N., Murray, J., et al. Molecular basis of spectrin deficiency in beta-spectrin Durham a deletion with beta-spectrin adjacent to the ankyrin binding site precludes spectrin attachment to the membrane in hereditary spherocytosis. *J Clin Invest.* 1995, 96, 2623-2629.
- [84]: Savvides, P., Shalev, O., Km, J., et al. Combined spectrin and ankyrin deficiency is common in autosomal dominant hereditary spherocytosis. *Blood.* 1992, 82, 2953-2959.
- [85]: Miraglia del Giudice E., Francese M., Nobili B., et al. High frequency of de novo mutations in ankyrin gene (ANK1) in children with hereditary spherocytosis. *J pediatr.* 1998, 132, 117-120.
- [86]: Delhommeau, F., Cynober, T., Schischmanoff, P.O., et al. Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. *Blood.* 2000, 2, 95, 393-397.
- [87]: Eun Sil Park, Hye Lim Jung, Hee-Jin Kim et al. Hereditary hemolytic anemia in Korea from 2007 to 2011: A study by the Korean Hereditary Hemolytic Anemia Working Party of the Korean Society of Hematology. *Blood Rev.* 2013, 48, 3.211-216.
- [88]: Olscon, A., Miraglia Del Giudice, E., Perrotta, S., et al. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Haematologica.* 1998, 83, 240-257.
- [89]: Olscon, A., Faienza, M.F., and Moretti, A., UGT 1 promoter polymorphism accounts for increased neonatal appearance of hereditary spherocytosis. *Blood.* 1998, 1091-1093.
- [90]: Miraglia del Giudice E., Perrotta S., Nobili B., et al. Coinheritance of Gilbert syndrome increases the risk for developing gallstones in patients with hereditary spherocytosis. *Blood.* 1999, 94, 2259-2262.

- [91]: Mariani, Maria Gabrielle, Barcellini, Wilma et al. Clinical and Hematologic Features of 300 patients affected by Hereditary Spherocytosis. *Haematologica. Pub med18641031 grouped according to the type of the membrane protein defect*, 2008.
- [92]: Steward, S.C., Chauvenet, A.R., and O'Suoji, C., Hereditary spherocytosis: Consequences of delayed diagnosis. *SAGE Open Medicine*. 2014.
- [93]: Schiff, M., Haÿs, S., Sann, L., Putet, G., Recombinant Human Erythropoietin (r-HuEPO) therapy in a newborn with hereditary spherocytosis. *Elsevier Masson SAS, Archives de pédiatrie*. 2003, 10, 333-336.
- [94]: Kamoun, T., Chabchoub, I., Aissa, K., et al .Acute erythroblastopenia due to Parvovirus B19 revealing hereditary spherocytosis. *Elsevier Masson SAS, Archives de Pédiatrie*. 2011, 18, 990-992.
- [95]: Tamary, H., Aviner, S., Freud, E., et al. High incidence of early cholelithiasis detected by ultrasonography in children and young adults with hereditary spherocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol*.2003, 25, 952-954.
- [96]: Bruce, L., Mutations in band 3 and cation leaky red cells. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*.2006; 36:331-336.
- [97]: Guitton, C., Garçon, L., Cynober, T., Gauthier, F., et al. Sphérocytose héréditaire: diagnostic et prise en charge chez l'enfant. *Elsevier Masson SAS. Archives de Pédiatrie*. 2009, 16, 556-558.
- [98]: Labrune, P., Diagnostic de l'ictère du nouveau-né. *Elsevier Paris. Archives de Pédiatrie*. 2000, 4-002-R-30.
- [99]: Alter, P., and Maisch, B., Non-compaction cardiomyopathy in an adult with hereditary spherocytosis. *European Journal of Heart Failure*.2007, 9, 98 - 99.

- [100]: Cynober, T., Brossard. Y., and Bader-Meunier, B., Anémies hémolytiques du nouveau-né. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Pédiatrie*, 2002, 4-002-R-40, p.6.
- [101]: Glader, B.E., and Lukens, J.N., Hereditary spherocytosis and other anemias due to abnormalities of the red cell membrane. *Wintrobe's hematology 10 th Ed.* 1999, 1132-1159.
- [102]: Sinha, R., Agarwal, I., Bawazir, W.M., et al. Distal Renal Tubular Acidosis with Hereditary Spherocytosis. *Indian pediatrics*.2013, 50, 693-695.
- [103]: Bousser, J., and Piguet, H., La maladie de Minkowski Chauffard. *Rev Prat.* 1971, 15, 23, 3039-3047.
- [104]: Izrael, V., Maladie de Minkowski Chauffard : étude de 229 cas et revue générale. *Actual Hematol.*1972, 6, 69-119.
- [105]: Cynober, T., Mohandas, N., Tchernia, G., Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: prevalence to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1996, 128, 259-269.
- [106]: Michaels, L., Cohen, A., Zhao, H., et al. Screening for hereditary spherocytosis by use of automated erythrocyte indexes. *The Journal of Pediatrics.* 1997, 130, 957-960.
- [107]: Lefrere, F., Hématologie et transfusion. *Amazon France.* 2008, p.80.
- [108]: Fenneteau, O., Maier-Redelsperger, M., Apport de l'examen pour le diagnostic constitutionnelle du frottis de sang de la pathologie du globule rouge. *Revue Française des Laboratoires, Elsevier, Paris.* juin/juillet 2000, N° 324.
- [109]: Gallagher, P.G., Abnormalities of the erythrocyte membrane. *Pediatr Clin North Am.* 2014, 60, 6, 1349-1362.

- [110]: Martinaud, C., Gaillard, T., Gisserot, O., et al. L'intérêt de l'examen attentif du frottis sanguin dans le diagnostic des anémies hémolytiques. *Ann Biol Clin*. mai-juin 2007, vol. 65, n° 3.
- [111]: Sphérocytose héréditaire –laboratoire d'hématologie hematocell.univ-angers.fr 2015.
- [112]: Eber, S.W., Armbrust, R., and Schroter, W., Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocyte spectrin concentration, osmotic fragility and autohemolysis. *J Pediatr*. 1990, 117, 409-416.
- [113]: Pribush, A., Hatskelzon, L., Kapelushnik, J., et al. Osmotic swelling and hole formation in membranes of thalassemic and spherocytic erythrocytes. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2003, 31, 43-47.
- [114]: Fukawaga, N., Friedman, S., Gill, F.M., et al. Hereditary spherocytosis with normal osmotic fragility after incubation. Is the autohemolysis test really obsolete? *The Journal of the American Medical Association*. 1979, 242, 63-64.
- [115]: Bucx M.J., Breed, W.P., Hoffmann, J.J., Comparison of acidified glycerol test, pink test and osmotic fragility test in hereditary spherocytosis: effect of incubation. *European Journal of Haematology*, 1988, 40, 227-231.
- [116]: Vettore, L., Zanella, A, Molaro, G., et al., A new test for the laboratory diagnosis of spherocytosis. *Acta Haematologica*. 1984, 72, 258-263.
- [117]: Streichman, S., Gesheidt, Y., and Tatarsky. Hypertonic cryohemolysis: a diagnostic test for hereditary spherocytosis. *Am J Hematol*. 1990, 35, 104-109.
- [118]: Streichman, S., and Gesheidt, Y., Cryohemolysis for the detection of hereditary spherocytosis correlation studies with osmotic fragility and autohemolysis. *Am J Hematol*. 1998, 206-212.
- [119]: Iglauer, A., Reinhardt, D., Schroter, W., et al. Cryohemolysis test as a diagnostic tool for hereditary spherocytosis. *Annals of Hematology*. 1999, 78, 555-557.

- [120]: Romero R.R., Poo, J.L., Vargas, F., et al. Usefulness of cryohemolysis test in the diagnosis of hereditary spherocytosis. *Archives of Medical Research*. 1997, 28, 247-251.
- [121]: Lesesve, J-F., Crepin, O., Sies, J-P., et al. Schizocyte et pathologie de la membrane du globule rouge. *Ann Biol Clin*. septembre-octobre 2012, vol. 70, n° 5.
- [122]: Cobb C.E., and Beth, A.H., Identification of the eosinyl-5-maleimide reaction site on the human erythrocyte anion-exchange protein: overlap with the reaction sites of other chemical probes. *Biochemistry*. 1990, 29, 8283-8290.
- [123]: Pan, R.J., Cherry, R.J., Evidence that eosin-5-maleimide binds close to the anion transport site of human erythrocyte band 3: a fluorescence quenching study. *Biochemistry*. 1995, 34, 4880-4888.
- [124]: King, M.J., Smythe, J., and Mushens, R., Eosin-5'-maleimide binding to band 3 and Rh-related proteins forms the basis of a screening test for hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology*. 2004, 124, 106-113.
- [125]: Institut national d'excellence en santé et en services sociaux de Québec (INESSS de Québec), ÉOSINE-5'-MALÉIMIDE (EMA) – DÉTECTION DE LA SPHÉROCYTOSE HÉRÉDITAIRE (RÉFÉRENCE 2014.01.007) Avis d'évaluation. *Inesss de Québec*. 2014.
- [126]: Miragli Del Giudice E., Perotta, S., Nobili, B., et al., Coexistence of hereditary spherocytosis (HS) due to band 3 deficiency and beta-thalassaemia trait: partial correction of HS phenotype. *Br J Haematol*. 1993, 85, 3, 553-557.
- [127]: Babiker, M.A., El seed F. A. R. A., A family with sickle cell trait and hereditary spherocytosis. *Scandinavian Journal of haematology*. 1984, 33, 1, 54-58.

- [128]: Rob Van Zwiten, Brigitte A. Van et al., Partial pyruvate kinase deficiency aggravate the phenotypic expression of band 3 deficiency in a family with hereditary spherocytosis. *American journal of haematology*, vol.90, 35-39
- [129]: Prabhakar S Kedar, Roshan B Colah, Kanjaksha Ghosh Dipika Mohanty. Hereditary spherocytosis in association with severe G6PD deficiency: report of an unusual case. *Clin Chim Acta*.2004, Vol. 344(1):221-224.
- [130]: King, M.J., Telfer, P., Mackinnon, H., et al., Using the eosin-5-maleimide binding test in the differential diagnosis of hereditary spherocytosis and hereditary pyropoikilocytose. *Clinical Cytometry*. 2008, 74, 244-250.
- [131]: Danise, P., Anise, P., Amendola, G., Nobili, B., et al., Flow-cytometric analysis of erythrocytes and reticulocytes in congenital dyserythropoietic anaemia type II (CDA II): value in differential diagnosis with hereditary spherocytosis. *Clinical and Laboratory Haematology*. 2001, 23, 7-13.
- [132]: Delaunay, J., Anémies dysérythropiétiques congénitales. Orphanet. 2000. P.3. Disponible sur : <http://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-CDA.pdf>.
- [133]: Pichon, C., Pratique de la transfusion en période néonatale. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. 2004, 17, 213-219.
- [134]: Lainé, F., Deugnier, Y., Traitements des surcharges en fer : place du déférasirox, nouveau chélateur oral du fer. *La lettre du pharmacologue*. 2007, Vol 21, n°3.
- [135]: Reliene, R., Mariani, M., Zanella, A., et al., Splenectomy prolongs in vivo survival of erythrocytes differently in spectrin/ankyrin and band 3-deficient hereditary spherocytosis. *Blood*.2002, 100, 2208-2215.
- [136]: Tamary, H., Aviner, S., Freud, E., High incidence of early cholelithiasis detected by ultrasonography in children and young adults with hereditary spherocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003, 25, 952-954.

- [137]: Sandler, A., Winkel, G., Kimura, K., et al. The role of prophylactic cholecystectomy during splenectomy in children with hereditary spherocytosis. *J Pediatr Surg.* 1999, 34, 1077–1078.
- [138]: Minkes, R.K., Lagzdins, M., and Langer, J.C., Laparoscopic versus open splenectomy in children. *J Pediatr Surg.* 2000; 35:699–701.
- [136]: Konstadoulakis, M.M., Lagoudianakis, E., Antonakis, P.T., et al. Laparoscopic versus open splenectomy in patients with beta thalassemia major. *J Laparosc Adv Surg Tech A.* 2006, 16, 5–8.
- [140]: Anirban Das, Deepak Bansal, Jasmina Ahluwalia, et al. Risk Factors for Thromboembolism and Pulmonary Artery Hypertension Following Splenectomy in Children With Hereditary Spherocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2014,61, 29–33.
- [141]: Bader-Meunier, B., Gauthier, F., Archambaud, F., et al., Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis. *Blood.* 2001, 399–403.
- [142]: Stoehr, G.A., Julian, J.N., Luecken, J. et al., Near-total splenectomy for hereditary spherocytosis: clinical prospects in relation to disease severity. *Br J Haematol.* 2006, 132, 791–793.
- [143]: De Buys Roessingh, A.S., De Lagausie, P., Rohrlich, P., et al., Followup of partial splenectomy in children with hereditary spherocytosis. *J Pediatr Surg.* 2002, 37, 1459–1463. [144]: Maddalena Casale and Silverio Perrotta. Splenectomy for hereditary spherocytosis: complete, partial or not at all. *Expert Rev. Hematol.* 4(6), 627–635 (2011)
- [145]: Benoist, S., Les complications à moyen et long terme de la splénectomie. *Éditions médicales et scientifiques, Elsevier SAS, Ann Chir.* 2000, 125, 317–324.

- [146]: Jais, X., loos, V., Jardim, C., et al. Splenectomy and chronic thrombo embolic pulmonary hypertension. *Thorax*. 2005, 60, 1031–1034.
- [147]: Pedersen, F.K., Post splenectomy infections in Danish children splenectomized 1969–1978. *Acta Paediatr Scand*. 1983, 72, 589–595
- [148]: Marchetti, M., Quaglini, S., and Barosi, G., Prophylactic splenectomy and cholecystectomy in mild hereditary spherocytosis: analyzing the decision in different clinical scenarios. *J Intern Med*. 1998, 244, 217–226.
- [149]: Schirmer, B.D., Winters, K.L., Edlich, R.F., Cholelithiasis and cholecystitis. *J Long Term Eff Med Implants*. 2005, 15, 329–338.
- [150]: Granel, B., Serratrice, J., Rey, J., et al, Érythroblastopénie aiguë transitoire intrafamiliale et sphérocytose héréditaire : responsabilité du parvovirus B19. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Rev Méd Interne*. 2001, 22, 664–667.
- [151]: Pinto, L., Iolascon, A., Miraglia DelGiudice E., et al., The Italian survey on hereditary spherocytosis. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 1995, 2, 43–47.
- [152]: Berthou, C., Splénectomie : indications en hématologie. Service d'Hématologie CHRU BREST. Disponible sur : [www.chirurgieviscéraledelouest.com](http://www.chirurgieviscéraledelouest.com).
- [153]: Collet, P., Manifestations ostéoarticulaires des anémies. *Elsevier SAS. EMC-Rhumatologie Orthopédie*. 2005, 23, 76; 393.
- [154]: Lawrence, P., Aronson, I., Saxe, N, et al., Leg ulcers in hereditary spherocytosis. *Clinical and Experimental Dermatology*. 1991, 16, 28–30.
- [155]: H.YoungKwon, Jun Oh Paek, Jeoung Eun Kim, et al. Pyoderma Gangrenosum in a Patient with Hereditary Spherocytosis. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. 2016, Vol. 15(1) 92–95

- [156]: Sutton, C., Garcea, Marshall, L., Lloyd T., De Alwis, C., Lewis, M., Pelvic extramedullary haematopoiesis associated with hereditary spherocytosis. *European Journal of Haematology*. 2003, 70, 326 -329.
- [157]: Brandenberg, J.B., Demarmels Biasiutti F., Lutz H.U., et al. Hereditary spherocytosis and hemochromatosis. *Annals of Hematology*. 2002, 81, 202-209.