



HAL
open science

Découverte d'un cas de sphérocytose héréditaire au décours d'une infection à Parvovirus B19 chez l'enfant: à propos d'une observation

Pascal Danober

► **To cite this version:**

Pascal Danober. Découverte d'un cas de sphérocytose héréditaire au décours d'une infection à Parvovirus B19 chez l'enfant: à propos d'une observation. Sciences du Vivant [q-bio]. 2004. hal-01734212

HAL Id: hal-01734212

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734212>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THESE

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Générale



par

Pascal DANOBER

Le 15 Janvier 2004

**Découverte d'un cas de sphérocytose héréditaire au décours
d'une infection à Parvovirus B19 chez l'enfant à propos d'une
observation**

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Pierre MONIN

Président

Monsieur le Professeur Thierry MAY)

Monsieur le Professeur Pascal CHASTAGNER)

Juges

Monsieur Jean-Pierre MASUTTI Docteur en Médecine)



THESE

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Générale

par

Pascal DANOBER

Le 15 Janvier 2004



**Découverte d'un cas de sphérocytose héréditaire au décours
d'une infection à Parvovirus B19 chez l'enfant à propos d'une
observation**

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Pierre MONIN

Président

Monsieur le Professeur Thierry MAY)

Monsieur le Professeur Pascal CHASTAGNER)

Monsieur Jean-Pierre MASUTTI Docteur en Médecine)

Juges

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Patrick NETTER

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Assesseurs

du 1^{er} Cycle :

du 2^{ème} Cycle :

du 3^{ème} Cycle :

de la Vie Facultaire :

Mme le Docteur Chantal KOHLER

Mr le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Mr le Professeur Hervé VESPIGNANI

Mr le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Georges GRIGNON – Professeur Jacques ROLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN – Etienne LEGAIT – Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT – Marcel RIBON
Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT
Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY – Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT
Gérard DEBRY – Georges GRIGNON – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Jean FLOQUET
Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES
Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER
Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY
Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT
Philippe CANTON – Bernard LEGRAS – Pierre MATHIEU – Jean-Marie POLU
Antoine RASPILLER – Gilbert THIBAUT – Michel WEBER – Gérard FIEVE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS -
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT - Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Eric LABOUYRIE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Alain BERTRAND – Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT - Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM - Professeur Jacques FELBLINGER

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Pierre NICOLAS

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

3^{ème} sous-section : (*Biologie cellulaire*)

Professeur Claude BURLET

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU – Professeur Alain LOZNIOWSKI

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Professeur Bernard FORTIER

3^{ème} sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU

2^{ème} sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Guy PETIET – Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS - Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES

2^{ème} sous-section : (*Réanimation médicale*)

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT – Professeur Bruno LÉVY

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique*)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie)

Professeur Colette VIDAILHET – Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean-Marie ANDRE

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel SCHMITT – Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénérologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)

Professeur François DAP

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie)

Professeur Yves MARTINET - Professeur Jean-François CHABOT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JULLIERE – Professeur Nicolas SADOUL –

Professeur Christian de CHILLOU

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT – Professeur Luc CORMIER

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne)

Professeur Francis PENIN – Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (*Pédiatrie*)

Professeur Danièle SOMMELET – Professeur Michel VIDAILHET – Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER – Professeur François FEILLET

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie infantile*)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL – Professeur Pierre JOURNEAU

3^{ème} sous-section : (*Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale*)

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4^{ème} sous-section : (*Endocrinologie et maladies métaboliques*)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction*)

Professeur Hubert GERARD

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

2^{ème} sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeur Michel STRICKER – Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Jean-Pascal FYAD

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT – Docteur Jean-Claude GUEDENET

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Yves GRIGNON – Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Xavier HERBEUVAL – Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Bernard NAMOUR – Docteur Marc MERTEN

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Docteur Christian BEYAERT

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Docteur Didier QUILLIOT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Michèle WEBER – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur François ALLA

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication (type biologique)*)

Docteur Pierre GILLOIS

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteur François SCHOONEMAN

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marie-Nathalie SARDA

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT

Docteur Damien LOEUILLE

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19^{ème} section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Michèle BAUMANN

32^{ème} section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Madame Marie-Odile PERRIN – Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY – Madame Anne GERARD
Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

68^{ème} section : BIOLOGIE DES ORGANISMES
Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale
Docteur Alain AUBREGÉ
Docteur Francis RAPHAEL

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON – Professeur Michel PIERSON - Professeur Michel BOULANGE
Professeur Alain LARCAN - Professeur Michel WAYOFF – Professeur Daniel ANTHOINE
Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur Pierre GAUCHER – Professeur Claude CHARDOT
Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Paul VERT – Professeur Jean PREVOT – Professeur Jean-Pierre GRILLIAT
Professeur Philippe CANTON – Professeur Pierre MATHIEU – Professeur Gilbert THIBAUT

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972) <i>Université de Stanford, Californie (U.S.A)</i>	Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989) <i>Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)</i>
Professeur Paul MICHIELSEN (1979) <i>Université Catholique, Louvain (Belgique)</i>	Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996) <i>Université de Pennsylvanie (U.S.A)</i>
Professeur Charles A. BERRY (1982) <i>Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)</i>	Professeur Mashaki KASHIWARA (1996) <i>Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)</i>
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982) <i>Brown University, Providence (U.S.A)</i>	Professeur Ralph GRÄSBECK (1996) <i>Université d'Helsinki (FINLANDE)</i>
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982) <i>Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)</i>	Professeur James STEICHEN (1997) <i>Université d'Indianapolis (U.S.A)</i>
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982) <i>Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)</i>	Professeur Duong Quang TRUNG (1997) <i>Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)</i>
Harry J. BUNCKE (1989) <i>Université de Californie, San Francisco (U.S.A)</i>	

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Pierre MONIN

Professeur de Pédiatrie

Je vous remercie du grand honneur que
vous me faites en acceptant la présidence
de cette thèse.

Je vous exprime ici ma reconnaissance et
mon profond respect.

A MES JUGES

Monsieur le Professeur Thierry MAY

Professeur de Maladies Infectieuses et Tropicales

Je vous remercie du grand honneur que vous me faites en acceptant de juger cette thèse.
Veuillez trouver ici l'expression de mes plus vifs remerciements et de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur Pascal CHASTAGNER

Professeur de Pédiatrie

Vous m'avez accueilli chaleureusement
quand je vous ai demandé de bien vouloir
juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de ma
gratitude et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Jean-Pierre MASUTTI

Praticien Hospitalier

Chef de Service de Pédiatrie du CHG de Sarrebourg (57)

C'est avec une grande simplicité que vous m'aviez confié ce travail. J'ai pu apprécier à cette occasion votre rigueur et surtout votre infinie patience.

Je vous exprime mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

A ma famille

Pour votre soutien, votre compréhension durant ces longues études, je vous remercie.

A Sandrine

Pour m'avoir accompagné et soutenu dans ce travail, veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.



I. INTRODUCTION.....	4
II. OBSERVATION.....	5
III. ORIENTATION DIAGNOSTIQUE DEVANT UNE ANEMIE CHEZ L'ENFANT.....	9
A. Diagnostic de l'anémie.....	9
1. Les symptômes cliniques de l'anémie.....	9
2. Le diagnostic biologique.....	9
3. Le diagnostic étiologique.....	10
B. Les anémies microcytaires.....	10
1. Anémies hypochromes hyposidérémiques par carence martiale.....	11
2. Anémie hyposidérémique inflammatoire.....	14
3. Anomalies microcytaires, normo ou hypersidérémiques.....	14
C. Les anémies normo ou macrocytaires arégénératives.....	15
1. Anémie par insuffisance médullaire.....	16
2. Anémies mégaloblastiques macrocytaires.....	17
D. Les anémies normochromes régénératives.....	19
1. Anémies hémorragiques aiguës.....	20
2. Anémies hémolytiques.....	20
IV. MALADIE DE MINKOWSKI-CHAUFFARD.....	25
A. HISTORIQUE.....	25
B. DEFINITION.....	27
C. FREQUENCE.....	28
D. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE.....	29
E. MANIFESTATIONS CLINIQUES.....	30
1. L'anémie.....	30
2. L'ictère.....	31
3. La splénomégalie.....	32
4. Signes cliniques chez le nouveau-né.....	32
F. EVOLUTION ET COMPLICATION.....	33
1. Complications propres au nouveau-né.....	34
2. Complications hématologiques.....	36
3. Autres complications.....	38

SERMENT

"Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque".

G.	LE DIAGNOSTIC	44
1.	Le syndrome hémolytique	44
2.	Diagnostic spécifique d'espèce.....	46
H.	STRUCTURE MOLECULAIRE DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE	70
1.	Forme et déformabilité cellulaire.....	70
I.	LES COMPOSANTS DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE ET DU CYTOSQUELETTE.....	72
1.	Les lipides membranaires	73
2.	Glucides.....	76
3.	Les protéines membranaires (74).....	76
4.	Les protéines extrinsèques.....	83
5.	Organisation du cytosquelette érythrocytaire.....	91
J.	ANOMALIES MOLECULAIRES DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE	94
1.	Déficit en spectrine.....	97
2.	Déficit en ankyrine.....	102
3.	Déficit en protéine bande 3.....	107
4.	Déficit en protéine 4,2 ou pallidine	113
K.	TRAITEMENT DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE	115
1.	La transfusion sanguine	115
2.	Splénectomie totale	117
3.	Complications de la splénectomie totale	119
4.	Alternatives à la splénectomie totale	121
V.	PARVOVIRUS B 19.....	123
A.	EPIDEMIOLOGIE	123
B.	MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES.....	124
1.	Manifestations cutanées.....	124
2.	Manifestations articulaires	126
3.	Les vascularites	127
4.	Manifestations hématologiques.....	128
5.	Parvovirus et grossesse (147)(153)	136
6.	Atteinte Cardiaque.....	139

7. Atteinte neurologique (147)(176).....	141
8. Atteinte hépatique (147)(176)	141
9. Manifestation oculaire (176)	141
10. Autres manifestations cliniques rares (176).....	142
C. CARACTERISTIQUES GENERALES	142
1. Les dentovirus.....	142
2. Les dependovirus	143
3. Les parvovirus	143
D. HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU PARVOVIRUS B19.....	144
E. MISE EN EVIDENCE DE LA PATHOGENECITE DU PARVOVIRUS B19.....	145
F. CARACTERISTIQUES DU PARVOVIRUS B19.....	147
G. REPLICATION DU GENOME	150
H. LES DIFFERENTES METHODES DIAGNOSTIQUES.....	154
1. Diagnostic direct du virus.....	154
2. Recherche de l'antigène viral.....	154
3. Recherche des anticorps.....	156
4. Biologie moléculaire.....	158
I. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL	160
J. TRAITEMENT DE LA CRISE ERYTHROBLASTOPENIQUE	162
VI. DISCUSSION.....	163
VII. RESUME.....	167
VIII. BIBLIOGRAPHIE	168



I. INTRODUCTION

Nous nous proposons de présenter une observation caractérisée par la révélation d'une anémie hémolytique constitutionnelle (anémie de Minkowski-Chauffard) à l'occasion d'une infection à Parvovirus B19 chez une enfant de 15 ans.

Après l'exposé de l'observation, nous discuterons brièvement de la démarche diagnostique devant un tableau d'anémie chez l'enfant.

Puis, nous présenterons de façon assez détaillée les caractéristiques de l'anémie de Minkowski-Chauffard en insistant sur les particularités de la membrane érythrocytaire à la lumière des connaissances moléculaires actuelles.

Ensuite, nous rappellerons les principales données concernant le Parvovirus B19 en insistant sur les modalités, et les effets pathogènes sur la lignée rouge.

Nous discuterons enfin de l'association des deux problèmes, c'est-à-dire l'anémie hémolytique constitutionnelle de Minkowski-Chauffard (ou sphérocytose héréditaire) et l'infection à Parvovirus B19 qui a précipité l'installation d'une anémie profonde.

II. OBSERVATION

La jeune patiente Cindy K née le 22/05/1986, est adressée au service de pédiatrie du CHG de Sarrebourg par son médecin traitant en raison d'une asthénie avec amaigrissement, de céphalées, de vertiges et de douleurs musculaires.

Elle présente également des douleurs abdominales et des vomissements évoluant dans un contexte fébrile à 39°C. Une semaine auparavant, un bilan sanguin montrait une numération formule sanguine tout à fait normale, avec une hémoglobine (Hb) à 12,1 G%, une hématocrite à 33,7 %, un Volume Globulaire Moyen (VGM) à 91, une Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) à 35,9 %, un taux de globules blancs et de plaquettes normal. Dans les antécédents personnels, on retrouve une notion d'épilepsie traitée par Carbamazépine (TEGRETOL) et une allergie au pollen. Les antécédents familiaux retrouvent une atopie maternelle. A l'examen d'entrée, en plus des signes sus-cités, nous notons une pâleur cutanéomuqueuse très importante, avec une cyanose péribuccale, une tachycardie à 140 pulsations/mn, un souffle systolique parasternal gauche 2/6, une tension artérielle normale, une

saturation en oxygène à 98 %. L'abdomen est souple, il n'y a pas d'hépatosplénomégalie. L'hémogramme réalisé montre une anémie normochrome normocytaire arégénérative :

Hb = 4,9 G%

GR = 1,53 10⁹/ml

Hématocrite = 15 %

VGM = 86

CCMH = 37 g/dl

Réticulocytes = 4,6 10⁶/mm³ soit 0,3 %

Les autres lignées sanguines sont normales. Le fer sérique est normal à 30 micromoles/l. Le test de Coombs est négatif. La bilirubine totale et la bilirubine conjuguée sont normales. L'haptoglobine est effondrée à 0,13 g/l. La carbamazépinémie est à 6 mg/l, taux normal sous traitement.

Sur le plan thérapeutique, la jeune fille a bénéficié d'une transfusion de trois poches de concentré globulaire non déplasmatisé, non irradié. Le contrôle de l'hémogramme après transfusion montre un taux d'hémoglobine à 10 G%, une hématocrite à 30 %, un VGM à 89, un CCMH à 34 g/ml, un taux de réticulocytes à 13,4 10⁶/mm³ soit 0,4 %.

Sur le plan clinique, on note une nette amélioration de l'état général avec disparition du souffle cardiaque, de la tachycardie, des vertiges et des céphalées. La sérologie du parvovirus B 19 est positive pour les IgM et pour les IgG. Ces résultats nous parviennent après son

transfert au CHU de Haute-pierre à Strasbourg pour bilan d'une anémie aiguë normochrome normocytaire arégénérative. Le nouveau bilan sanguin réalisé retrouve une bilirubine libre à la limite supérieure de la normale, une LDH augmentée à 971, une haptoglobine toujours effondrée inférieure à 0,10 g/l. La ferritine est élevée à 448 ng/ml, l'électrophorèse des protéines retrouve des IgA abaissés à 2,69 g/l. La vitamine B12 est normale à 0,23 picog/l, les folates plasmatiques abaissés à 3,94 picog/l.

L'examen clinique et les résultats biologiques permettent d'évoquer le diagnostic de sphérocytose héréditaire, confirmé par l'étude du VMCS (Volume Moyen Corpusculaire Sphérisé) à $84,1 \mu^3$ donc inférieur au VGM. Ce test a la même fiabilité que l'étude isotopique de la résistance osmotique globulaire. La détermination par amplification du gène de la région VP1 du parvovirus B19 est également positive. La recherche par PCR (Polymerase Chain Reaction) du cytomegalovirus et de l'entérovirus est négative. Le caryotype est normal, le médullogramme retrouve une moëlle avec hyperplasie de la lignée érythroblastique et la présence de sphérocytes et de schizocytes dans le sang périphérique. L'équipe du Professeur Patrick LUTZ à Strasbourg conclut à une anémie aiguë due à une primo-infection par le parvovirus B19 sur fond de sphérocytose héréditaire non connue auparavant entraînant ainsi une érythroblastopénie. L'échographie, réalisée à distance, montrera la présence d'une lithiase vésiculaire sans indication chirurgicale.

L'interrogatoire familial ne retrouve pas d'autres membres porteurs de sphérocytose héréditaire, mais le père de Cindy est suivi pour un syndrome de DUBIN JOHNSON (ictère chronique constitutionnel).

III. ORIENTATION

DIAGNOSTIQUE DEVANT UNE

ANEMIE CHEZ L'ENFANT

A. Diagnostic de l'anémie

1. Les symptômes cliniques de l'anémie

Ils sont en rapport avec la diminution de l'hémoglobine.

- pâleur cutanéomuqueuse
- signes d'hypoxie tissulaire (asthénie, dyspnée d'effort, vertiges, céphalées, tachycardie, angor d'effort).

2. Le diagnostic biologique

Il repose sur l'hémogramme. Un enfant est anémique lorsque le taux d'hémoglobine est de 2 G/100 ml inférieur à la moyenne de son âge. Il faut toujours tenir compte de l'état d'hydratation d'un enfant avant d'interpréter le taux d'hémoglobine.

3. Le diagnostic étiologique

La découverte d'une anémie conduit à rechercher son étiologie, l'enquête est orientée par plusieurs paramètres :

- l'hémogramme complet avec VGM, CCMH et taux de réticulocytes
- le mode d'installation du syndrome anémique
- l'examen clinique à la recherche d'un ictère, d'un purpura, d'une hépatosplénomégalie, d'adénopathies périphériques
- l'âge de l'enfant, son ethnie, ses antécédents personnels et familiaux.

On peut schématiquement distinguer trois types d'anémie :

- les anémies microcytaires
- les anémies normo ou macrocytaires, arégénératives
- les anémies normo ou macrocytaires, régénératives.

B. Les anémies microcytaires

Une anémie est microcytaire quand le VGM est inférieur ou égal à $80 \mu^3$. Elles sont souvent hypochromes. Une hypochromie a la même

signification qu'une microcytose. Le dosage du fer sérique, de la sidérophilline et du coefficient de saturation permet de distinguer les anémies hyposidérémiques des anémies hypersidérémiques.

1. Anémies hypochromes hyposidérémiques par carence martiale

CCMH inférieur ou égal à 0,30

fer sérique inférieur ou égal à 60 $\mu\text{G}/100\text{ ml}$

sidérophilline supérieure ou égale à 350 μG

les réticulocytes sont normaux ou bas.

C'est l'anémie la plus commune chez les nourrissons. Elle est moins fréquente aujourd'hui du fait de la prise en charge thérapeutique préventive.

a) Etiologies des anémies hypochromes du nourrisson

(1) Réduction du capital férrique à la naissance

- prématurité : le nourrisson ne bénéficie pas de la période où le passage trans-placentaire du fer est maximal (c'est-à-dire au 3^{ème} trimestre de gestation)

- gémellité
- ligature précoce du cordon ombilical
- multiparité.

(2) Exagération des besoins

Elle concerne toute croissance anormalement rapide (prématurité, dysmaturité) et toute demande exagérée en hématies (cardiopathie cyanogène).

(3) Insuffisance des apports

- régime lacté exclusif prolongé
- troubles de l'absorption du fer par diarrhée chronique (intolérance au gluten)

(4) Spoliation sanguine post-natale

- syndrome hémorragique du nourrisson insuffisamment compensé
- prélèvements sanguins multiples
- hémorragies minimales répétées : par exemple au cours des malpositions cardio-tubérositaires ou des troubles de l'hémostase.

(5) Cause exceptionnelle

Déficit congénital en transferrine.

b) Etiologies des anémies hypochromes chez le grand enfant

(1) Chlorose des jeunes filles

Il s'agit d'une anémie probablement liée à l'intrication de plusieurs phénomènes : alimentation plus ou moins bien équilibrée, période de croissance, règles abondantes.

De plus en plus rare, elle cède au traitement martial.

(2) Hémorragies digestives

- Par processus tumoral, rare chez l'enfant
- Diverticule de Meckel
- Par angiomatose de Rendu-Osler (on recherche les stigmates au niveau des doigts, des muqueuses linguale et nasale).

(3) Hémosidérose pulmonaire

Le diagnostic est fait par l'existence d'hémoptysies à répétition, par une radiographie pulmonaire évocatrice, et par la recherche de sidérocytes dans le liquide de tubage gastrique.

(4) Geophagie

Rare en France.

2. Anémie hyposidérémique inflammatoire

Fer sérique inférieur ou égal à 60 $\mu\text{G}/100\text{ ml}$

Sidérofilline inférieure ou égale à 300 μG .

Une anémie hypochrome et/ou microcytaire peut survenir au cours d'infections rares, de néoplasie, de rhumatisme articulaire. La capacité de saturation de la sidérofilline est normale (300 μG) alors qu'elle est élevée au cours des carences et saignements. La ferritine sérique est normale ou augmentée.

3. Anomalies microcytaires, normo ou hypersidérémiques

Elles se définissent par un fer sérique supérieur ou égal à 140 $\mu\text{G}/100\text{ ml}$ avec sidéroblastose excessive et relevant d'un trouble de l'utilisation du fer.

a) La Bêta-thalassémie mineure

Elle est d'une grande fréquence chez les méditerranéens et les noirs. On doit l'évoquer devant toute microcytose isolée et la confirmer par une hémoglobine A2 et/ou hémoglobine F qui sera élevée à l'électrophorèse (la bêta-thalassémie majeure se révèle dans la première année de la vie par une anémie avec hémolyse et hépatosplénomégalie).

b) Les anémies sidéroblastiques acquises

- saturnisme et intoxication par les fluorures
- anémies dites pyridoxinosensibles améliorées par des doses importantes de vitamine B6
- anémies sidéroblastiques familiales n'atteignant que les garçons.

C. Les anémies normo ou macrocytaires arégénératives

VGM supérieur ou égal à $85 \mu^3$.

Taux de réticulocytes inférieur ou égal à $100\ 000/\text{mm}^3$.

Elles sont liées soit à :

- une insuffisance médullaire quantitative par aplasie ou hypoplasie du tissu érythropoïétique
- une dysérythropoïèse.

On recherche le mécanisme par un myélogramme mais avant celui-ci on peut éliminer un certain nombre de diagnostics classiques :

- l'anémie inflammatoire (intérêt du dosage du fer sérique, de la sidérophilline et de la recherche d'un syndrome inflammatoire biologique)
- l'insuffisance rénale
- l'insuffisance thyroïdienne.

1. Anémie par insuffisance médullaire

a) Erythroblastopénie aiguë

- érythroblastopénies des anémies hémolytiques constitutionnelles liées à une surinfection par le Parvovirus B19 (intérêt de la sérologie Parvovirus B19), en particulier dans la sphérocytose héréditaire, sujet de notre étude
- érythroblastopénies aiguës virales (VIH, hépatite virale)
- érythroblastopénies aiguës médicamenteuses (chloramphénicol)
- autres causes : Kwashiorkor, insuffisance rénale aiguë
- idiopathiques.

b) Maladie de Blackfan-Diamond

C'est une anémie normo ou macrocytaire normochrome arégénérative, sans atteinte des autres lignées.

Le début est précoce (6 premiers mois de la vie).

L'hémogramme montre une anémie très profonde au moment du diagnostic avec réticulocytose nulle.

Il existe souvent des malformations associées (25 % des cas) : pouces à triphalanges, phénotype turnérien.

Le médullogramme montre une atteinte unique de la lignée érythroblastique.

Dans la moitié des cas, l'anémie se corrige avec la corticothérapie (doses d'entretien). En l'absence d'efficacité, la survie n'est possible que grâce à des transfusions répétées.

c) Les anémies au cours des aplasies médullaires

L'anémie s'associe aux manifestations hémorragiques conséquences de la thrombopénie et de la fièvre liée à l'infection.

- tantôt le myélogramme est pauvre. Il faudra rechercher une cause à l'aplasie : génétique (maladie de Fanconi), toxique (médicamenteuse), infectieuse (hépatite virale), idiopathique
- tantôt le myélogramme est riche, envahi par des cellules leucémiques (lymphoblastiques, myéloblastiques ou monoblastiques) ou extra-hématopoïétiques (métastases de sympathoblastome)
- l'ostéopétrose ou maladie d'Albers-Schönberg (densification progressive de la corticale des os aboutissant à la disparition des espaces médullaires et donc de la moëlle érythropoïétique)
- dysérythropoïèses constitutionnelles (très rares).

2. Anémies mégaloblastiques macrocytaires

VGM supérieur ou égal à $120 \mu^3$

CCMH normale

Taux de réticulocytes inférieur ou égal à $100\ 000/\text{mm}^3$.

Elles sont rares en France. Le déficit responsable en acide folique et/ou en vitamine B12 est secondaire à une carence d'apport, à un trouble de l'absorption ou à un défaut d'utilisation. Un blocage de la synthèse d'ADN peut également entraîner une anémie de ce type. L'anémie est normochrome et surtout macrocytaire, avec un VGM supérieur ou égal à $120 \mu^3$. Les anomalies associées sont très évocatrices, elles portent sur les polynucléaires de taille inégale, avec des noyaux hypersegmentés.

Le médullogramme montre une moëlle riche avec mégaloblastose caractéristique.

Le dosage radio-immunologique de la vitamine B12 et des folates précisera la vitamine déficiente.

Il existe 3 grands types d'anémies mégaloblastiques :

a) Anémies mégaloblastiques par carence en acide folique et en vitamine B12

Elles se rencontrent dans les syndromes carenciels, les malabsorptions digestives, les traitements anti-mitotiques (méthotrexate), anti-comitiaux (hydantoïne) et anti-paludéens de synthèse (sulfamides).

b) Anémies mégaloblastiques par avitaminose B12 pure

Elles relèvent de deux mécanismes :

- maladie de Biermer congénitale : corrigée par administration de Facteur Intrinsèque
- maladie d'Imerslund : Facteur Intrinsèque normalement présent, test de Schiller non modifié. Il existe des anomalies des récepteurs iléaux.

La vitaminothérapie parentérale est indéfiniment poursuivie.

c) Anémies mégaloblastiques non carentielles constitutionnelles

déficit en transcobalamine II

déficit en synthèse des bases pyrimidiques

déficit en N5 méthyl tétrahydrofolate réductase

déficit en dihydrofolate réductase

déficit en formino transférase.

D. Les anémies normochromes régénératives

CCMH normal

VGM normal ou un peu augmenté (82-100 μ^3)

Taux de réticulocytes supérieur ou égal à 150 000/mm³.

La réticulocytose est augmentée. Ces anémies relèvent soit d'une perte excessive en globules rouges (hémorragies aiguës) soit d'une destruction exagérée (hémolyse).

1. Anémies hémorragiques aiguës

Habituellement faciles à dépister, le saignement peut être profond ou son extériorisation retardée. Il faut penser au diverticule de Meckel sur l'iléon.

En cas de saignement profond, il peut y avoir une hyperbilirubinémie de résorption (diagnostic différentiel avec l'anémie hémolytique).

2. Anémies hémolytiques

Habituellement, l'hémolyse se fait dans les cellules réticulaires donnant une hyperbilirubinémie indirecte et un subictère.

Plus rarement, au cours des hémolyses brutales, la destruction est intra-vasculaire, il n'y a pas d'hyperbilirubinémie mais une hémoglobinémie avec une hémoglobinurie. L'hyperréticulocytose témoigne de l'effort de compensation médullaire (au cours de toute anémie hémolytique, peuvent exister des épisodes d'érythroblastopénie transitoire avec réticulocytose basse ou nulle : syndrome d'Owren Gasser.

La suspicion d'une anémie hémolytique impose divers examens avant tout traitement :

- frottis sanguin à la recherche d'une anomalie de la forme du globule rouge (microsphérocytes, schizocytes...)
- test de Combs
- azotémie, bilirubinémie
- électrophorèse de l'hémoglobine
- en dehors du contexte d'urgence, mesure de la résistance des globules rouges
- prélèvements maintenus à 4 °C si dosages enzymatiques ultérieurs.

Le mécanisme des anémies hémolytiques est soit lié à une fragilité extrinsèque des globules rouges, soit lié à une agression extérieure.

On distingue :

- les anémies par hémolyse intra-corpulaire
- les anémies par hémolyse extra-corpulaire.

a) Anémies hémolytiques extra-corpulaires

(1) *Syndrome hémolytique et urémique*

Il associe une insuffisance rénale, une hémolyse intra-vasculaire, une thrombopénie par microangiopathie thrombotique.

L'anémie est régénérative avec schizocytose.

Le pronostic est dominé par la sévérité de l'atteinte rénale.

(2) Anémies hémolytiques immunologiques

Le début est brutal et l'anémie intense. Le diagnostic repose sur le test de Coombs.

Les anémies auto-immunes sont le plus souvent idiopathiques et aiguës et surviennent dans un contexte d'infection virale (MNI, CMV...).

Un mécanisme immuno-allergique peut être causé par certains médicaments (pénicilline, quinine, quinidine).

L'évolution est en général favorable sous corticothérapie.

(3) Accès de paludisme et certaines septicémies

Le contexte est évocateur.

b) Anémies hémolytiques intra-corporelles

(1) Anomalies de membranes

maladie de Minkowski Chauffard ou sphérocytose héréditaire (sujet de notre étude)

les autres anémies hémolytiques constitutionnelles par anomalies de membranes sont rares : élliptocytose, stomatocytose et acanthocytose.

(2) *Anomalies de l'hémoglobine*

Ce sont les anémies hémolytiques les plus répandues dans le monde :

- drépanocytose ou hémoglobinose S : elle entraîne une anémie hémolytique franche, chronique à l'état homozygote, touchant essentiellement les sujets noirs et mortelle le plus souvent avant la troisième décennie.

Le diagnostic est évoqué sur l'aspect en faucilles des globules rouges et confirmé par l'électrophorèse de l'hémoglobine (absence de HbA et existence d'une HbS).

- thalassémie majeure ou maladie de Cooley : elle est dépistée dès l'âge de 3 mois devant une anémie chez un enfant méditerranéen ou asiatique.

A l'examen clinique, on retrouve une hépatosplénomégalie, un faciès mongoloïde, un retard staturo-pondéral.

L'anémie est sévère, hypochrome, microcytaire avec anisopoikilocytose. L'électrophorèse de l'hémoglobine montre une baisse de l'hémoglobine A et une augmentation importante de l'hémoglobine fœtale.

Plusieurs anomalies peuvent s'associer : thalassodrépanocytose classique et grave.

(3) *Enzymopathies*

Les déficits en glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) et en pyruvate kinase (PK) sont les causes les plus fréquentes d'anémies hémolytiques par enzymopathie.

En général, la transmission des déficits enzymatiques se fait sur le mode récessif sauf pour le déficit en G6PD qui est lié au chromosome X.

Le diagnostic repose sur les dosages enzymatiques qui doivent tenir compte de la réticulocytose car les réticulocytes sont riches en enzymes. Un taux d'enzymes normal malgré une réticulocytose élevée peut être significatif d'un déficit.

Le déficit en G6PD se présente sous deux aspects :

- le déficit de type noir : forme intermittente avec épisodes aigus d'anémie hémolytique déclenchés par la prise de fèves ou de sulfamides
- le déficit de type blanc : plus sévère et se manifestant par une hémolyse chronique.

Le diagnostic est évoqué par la présence de corps de Heinz intra-érythrocytaires, le traitement est préventif par l'exclusion des médicaments en cause.

- le déficit en pyruvate kinase est ubiquitaire : il entraîne une hémolyse chronique débutant tôt dans la vie et améliorée par la splénectomie.

IV. MALADIE DE MINKOWSKI- CHAUFFARD

A. HISTORIQUE

C'est en 1871 que 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 « microcytémie ». (1)(2)(3)

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. (2)(3)

En 1900, MINKOWSKI fait la description clinique de « l'ictère chronique héréditaire avec splénomégalie ». (4)

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 globules rouges, décrit une augmentation de la fragilité globulaire à l'hémolyse par des solutés hypotoniques et la mesure quantitativement. (5)

Le rôle de la rate dans la physiopathologie de la maladie est suspecté.

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 (3) :

- 1926 : CAMPBELL l'appelle la jaunisse acholurique

- 1931 : NAEGELI l'appelle l'anémie hémolytique constitutionnelle

- 1936 : KRUMBHARR parle d'ictère sphérocytaire

- 1936 : DEBRE et collaborateurs parlent de maladie hémolytique familiale et prouvent le mode de transmission autosomique dominant

- 1943 : DACIE utilise le nom d'anémie hémolytique familiale et montre le caractère corpusculaire de la lésion. (6)

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 Sphérocytose Héritaire. (3)

Dès 1922, TILESTON émet l'hypothèse que certains ictères du nouveau-né peuvent être l'expression clinique initiale d'une maladie hémolytique familiale. (7)

B. DEFINITION

Les différentes étapes de l'historique ont permis de dégager une définition plus précise de cette maladie : anémie hémolytique intracorpusculaire dont l'anomalie primitive est inhérente à la membrane du globule rouge et, qui se traduit par une modification de forme des globules rouges qui deviennent sphériques alors que normalement, ils sont biconcaves. Cette définition est basée sur les faits inconstants suivants (8) :

- hémolyse de transmission autosomique dominante avec présence de sphérocytes.
- diminution de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques.
- augmentation de l'autohémolyse à 37°C corrigée partiellement par l'adjonction de glucose.
- séquestration splénique préférentielle des hématies marquées au Chrome 51.

C. FREQUENCE

La sphérocytose héréditaire est la plus fréquente des maladies constitutionnelles du globule rouge.

On la retrouve dans toutes les races mais elle prédomine dans la population blanche.

Rencontrée de façon plus fréquente dans les populations du Nord de l'Europe, elle est très rare dans les populations noires d'Amérique et d'Afrique.

Elle est aussi décrite en Egypte, aux Philippines et au Japon.

La fréquence aux Etats-Unis est estimée à 1/5000 et en Suède à 1/2000. (9)(10)(11)(12)

Dans cette évaluation, il faut tenir compte de la variabilité d'expression de la maladie allant de l'hémolyse sévère à la forme latente.

D. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE

La majorité des cas de sphérocytose héréditaire est diagnostiquée dans l'enfance ou l'adolescence, surtout entre 5 et 10 ans.

Mais du fait de la grande variabilité clinique, elle peut être découverte à tout âge, depuis la période néonatale jusqu'au troisième âge.

Les circonstances de découverte de la maladie sont très variables et sont fonction de l'âge de survenue et de la sévérité de l'atteinte.

Dans 80 % des cas, elle se révèle par une anémie hémolytique avec pâleur, ictère, splénomégalie (isolés ou associés), ou par une crise de déglobulisation. Le diagnostic peut être porté dès la naissance chez un enfant avec un ictère néonatal et une anémie sévère nécessitant des transfusions répétées. (13)

Souvent, le diagnostic est fait dans la petite enfance suite à des examens systématiques quand il existe une atteinte d'un des parents ou d'un membre de la fratrie.

Enfin, du fait de sa bonne tolérance, la sphérocytose héréditaire peut n'être diagnostiquée qu'à un âge avancé.

50 % des adultes atteints auraient présenté un ictère néonatal et, dans la majorité des cas, le diagnostic n'a été porté que beaucoup plus tard. (11)

E. MANIFESTATIONS CLINIQUES

1. L'anémie

Elle est habituellement modérée, d'intensité variable d'un sujet à l'autre.

Dans les formes atténuées, elle est compensée par l'augmentation de l'érythropoïèse.

Elle peut s'aggraver brutalement lors de poussées évolutives avec un risque de décompensation cardiaque.

Le nombre des globules rouges est en moyenne de 3,5 millions/mm³.

Le taux d'hémoglobine varie d'un patient à l'autre mais varie aussi dans le temps chez un même patient. Le VGM est soit normal, soit un peu bas. (11) (13)

La concentration corpusculaire moyenne en Hb (CCMHb) est le plus souvent augmentée entre 35 et 39 %.

Le taux des réticulocytes est toujours augmenté. (8)(11)(14)

Un faible pourcentage d'érythroblastes circulants est parfois rencontré dans les poussées évolutives.

Le myélogramme, inutile au diagnostic, montrerait une moëlle très riche avec une érythroblastose médullaire compensatrice cytologiquement normale. (15) Parfois, on note une moëlle mégaloblastique par carence relative en folate consécutive à l'augmentation des besoins pour l'érythropoïèse. (8) (14)

Par ailleurs, le nombre des plaquettes est normal, celui des leucocytes normal ou légèrement augmenté.

L'hémogramme peut également montrer une hyperleucocytose avec polynucléose et thrombocytose d'entraînement en cas de grande hémolyse aiguë.

2. L'ictère

Signe prépondérant de la période néonatale (50 % des adultes atteints ont présenté un ictère néonatal), il ne s'accompagne d'aucun signe de rétention biliaire. (13)(16) L'ictère, intermittent, est majoré par :

- une exposition au froid
- un choc émotionnel
- une grossesse.

Il peut être inapparent malgré une biologie d'hyperhémolyse. Seule la bilirubine non conjuguée (libre) est augmentée. Cette hyperbilirubinémie induit une urobilinurie et une augmentation du stercobilinogène fécal.

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'hémoglobininémie et donc une diminution de la concentration en haptoglobine.

3. La splénomégalie

La rate est le siège préférentiel de l'hémolyse. Elle est hypertrophiée chez 75 à 82 % des sujets atteints. Asymptomatique, elle peut se manifester par une sensation de pesanteur ou par de violentes douleurs.

Elle varie en taille avec les poussées ictéro-anémiques de la maladie.

En général, elle est tout juste palpable mais peut prendre des dimensions considérables (jusqu'à atteindre l'ombilic ou la crête iliaque).

Cette splénomégalie est lisse, ferme, non douloureuse à la palpation.

Elle n'est génératrice d'aucune complication. (14)(17)(18)

Il n'y a pas de corrélation entre la taille de la rate et la sévérité de la maladie. (17)

L'hépatomégalie doit faire suspecter une complication ou une erreur de diagnostic.

4. Signes cliniques chez le nouveau-né

L'ictère est le plus souvent précoce. Il débute dès les premières heures de la vie, parfois seulement au 2^{ème} ou 3^{ème} jour, plus rarement en fin de première semaine.

Il 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).

Cet ictère peut être isolé et la pâleur cutanéomuqueuse inconstante. Le foie et la rate sont en général normaux, la splénomégalie n'apparaît de façon inconstante chez le nouveau-né que dans les premières semaines ou mois suivants.

F. EVOLUTION ET COMPLICATION

L'évolution spontanée de la sphérocytose héréditaire est très variable. Les formes graves découvertes dans la plupart des cas pendant l'enfance entraînent une mauvaise tolérance et représentent 20 % des cas, selon IZRAËL et collaborateurs. (11)

Dans la majorité des cas, la tolérance est satisfaisante du fait d'une hémolyse moyenne compensée.

Dans 15 %, l'affection est même très bien supportée, pouvant passer inaperçue et n'être découverte que fortuitement.

Il faut garder à l'esprit que tout comme les formes mal tolérées, les formes atténuées sont exposées à des complications, en particulier les crises de déglobulisation et les lithiases pigmentaires. La splénectomie est alors indiquée. (11)(12)

1. Complications propres au nouveau-né

a) L'ictère nucléaire

Il s'agit d'une complication gravissime quand l'hyperbilirubinémie atteint des taux supérieurs à 340 micromoles/l. La bilirubine libre diffuse à travers la barrière hémocérébrale, quitte rapidement le sérum et se fixe dans les tissus riches en lipides, particulièrement au niveau des noyaux gris centraux (qui est une zone à haute activité métabolique et à forte consommation en oxygène). (19)

Les manifestations initiales de l'ictère nucléaire sont des modifications du tonus, avec léthargie et apparition d'un cri aigu.

Puis apparition d'une hypertonie permanente avec spasticité et incurvation du rachis, enroulement des membres et mouvements oculaires anormaux (regard en « coucher de soleil »).

Le pronostic vital est engagé.

En cas de survie, les séquelles sont graves et les lésions neurologiques irréversibles :

- un syndrome choréo-athétosique.
- des troubles de la marche et de l'équilibre.
- une surdité.
- une paralysie oculaire.
- une dysplasie dentaire.
- un retard mental.

b) Séquelles auditives

Même sans atteindre les taux pouvant réaliser un ictère nucléaire, l'hyperbilirubinémie peut entraîner des séquelles auditives.

Le dépistage de cette complication se fait par les potentiels évoqués auditifs (PEA).

Cette atteinte est le plus souvent réversible dans la majorité des cas. (19)(20)

c) Les surinfections microbiennes

Très fréquentes en période néonatale et dans la petite enfance avec atteinte des voies aériennes supérieures et de la sphère ORL, ces épisodes infectieux sont parfois graves, par leur intensité et leur répétition. Le pronostic vital peut être mis en jeu. (8)(11)(12)(21)

d) Les lésions dermiques d'érythropoïèse extramédullaire

Décrites chez le nouveau-né, ce sont des lésions maculaires ou papulaires purpuriques rouge-bleu, de 2 à 8 mm de diamètre, disséminées sur tout le corps. Elles correspondent à la persistance ou à l'accentuation de l'activité érythroblastique dermique de la période foétale. (22)

2. Complications hématologiques

Les crises de déglobulisation sont les manifestations caractéristiques et habituelles de la sphérocytose héréditaire. Elles apparaissent aussi bien dans les formes atténuées (étant parfois un mode de révélation) que dans les formes anémiques chroniques.

Elles constituent une cause considérable de morbidité par leur sévérité et leur fréquence de survenue.

Elles relèvent soit d'un mécanisme d'hyperhémolyse brutale, soit d'une aplasie médullaire transitoire.

a) Les crises hémolytiques aiguës

Elles sont le résultat d'une exacerbation brutale de l'hémolyse des globules rouges déclenchée à l'occasion d'une infection intercurrente, virale ou bactérienne.

Cliniquement, elles se manifestent par :

- une altération de l'état général.
- une fièvre.
- une majoration de l'ictère.
- des douleurs lombaires et abdominales (parfois d'allure pseudo-chirurgicale).
- des nausées et des vomissements.
- une splénomégalie accentuée qui devient sensible.

Biologiquement, une anémie importante apparaît avec des signes d'hyperdestruction globulaire et parfois une hémoglobinémie ainsi qu'une hémoglobinurie. L'hyperréticulocytose 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.

b) Les crises aplasiques : le syndrome d'OWREN-GASSER

Ces crises aplasiques sont moins fréquentes que les précédentes et touchent particulièrement les enfants.

Elles résultent d'une aplasie médullaire transitoire connue sous le nom d'érythroblastopénie ou syndrome d'Owren-Gasser.

Le responsable de cette érythroblastopénie a été identifié comme étant le Parvovirus humain B19 lors de son premier contact avec l'organisme (le plus souvent chez l'enfant) provoquant une hypoplasie érythroblastopénique brutale et intense et donc une anémie aiguë arégénérative d'une dizaine de jours, qui passe inaperçue chez le sujet sain (du fait d'une durée de vie normale des globules rouges). Par contre, chez le sujet à durée de vie réduite des globules rouges, il révèle les anémies hémolytiques chroniques dont le plus fréquent est la sphérocytose héréditaire.

La crise érythroblastopénique est le plus souvent précédée par des manifestations rhinopharyngées ou des voies aériennes supérieures, un état pseudogrippal avec arthralgies.

Il n'y a ni recrudescence de l'ictère, ni de la splénomégalie.

Biologiquement, on observe :

- une anémie normochrome normocytaire avec parfois une granulopénie et une thrombopénie voire un syndrome mononucléosique mineur.
- un taux de réticulocytes très bas voire nul.
- le myélogramme est inutile mais confirmerait une atteinte préférentielle de la lignée érythroïde.
- après 10 jours, apparaît une crise réticulocytaire avec myélémie, polynucléose et thrombocytose.

L'évolution spontanée se fait vers la guérison en 10 à 15 jours mais l'intensité de l'anémie nécessite souvent des transfusions.

3. Autres complications

a) Lithiase biliaire pigmentaire

Il s'agit d'une lithiase pigmentaire de bilirubinate de calcium. Elle est fréquente dans la sphérocytose héréditaire et dans les autres types d'anémie chronique hémolytique.

La probabilité d'apparition d'une lithiase biliaire augmente avec l'âge, mais peut s'observer chez l'enfant dès l'âge de 3 ans. (23)(24)

L'incidence est de 30 % en moyenne chez l'adulte et de 10 % chez l'enfant.

La lithiase biliaire est le plus souvent vésiculaire mais elle peut être située au niveau du canal cholédoque de façon non exceptionnelle.

Chez l'enfant, cette lithiase biliaire est de découverte fortuite le plus souvent. (28)

Chez l'adulte, elle se manifeste par des coliques hépatiques (parfois mode de découverte de la sphérocytose héréditaire). (25)

L'échographie, à la recherche d'une lithiase biliaire, 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. (25)

Une lithiase biliaire peut se compliquer d'angiocholite : la choléstase peut se rajouter à un ictère hémolytique (hyperbilirubinémie libre).

Devant un ictère à bilirubine mixte, il faut penser à une lithiase cholédocienne et à une hépatite post-transfusionnelle. (15)

b) Hyperplasie érythropoïétique extramédullaire et anomalies osseuses

(1) *Hétérotopies médullaires médiastinales*

Elles sont caractérisées par leur siège postéro-inférieur, leur aspect bilatéral « à cheval sur le rachis » à la radiographie.

Les épreuves isotopiques au fer 59 permettent à la fois le diagnostic d'anémie hémolytique et de l'activité hémopoïétique des sites d'hétérotopie médiastinaux. La ponction biopsie ou aspiration permet de confirmer le diagnostic. (29)

(2) Les manifestations osseuses de la sphérocytose héréditaire

Elles sont communes aux anémies hémolytiques chroniques et témoignent d'une augmentation de l'érythropoïèse et du développement réactionnel du tissu hématoïétique de la moëlle osseuse.

(a) Les anomalies des membres

L'hématopoïèse siège au niveau des extrémités chez le nourrisson et dans les os longs (fémur) chez les petits enfants.

On observe :

- une ostéoporose diffuse.
- une modification de la morphologie des os avec aspect quadrangulaire des os tubulaires des mains et des pieds, aspect en « flacon d'Erlenmeyer » du fémur.
- un retard d'apparition des points d'ossification. On peut remarquer qu'au cours de la croissance, le siège de l'hématopoïèse se modifie et les anomalies se réparent.

(b) *Les modifications crânio-faciales*

Elles apparaissent dès la 2^{ème} année, et sont plus nettes après 5 ans et résultent d'une hémolyse permanente.

. Les anomalies du crâne touchent initialement la voûte au niveau frontal puis pariétal. La proéminence des os du crâne lui donne un aspect turriciforme.

. A la radiographie, on retrouve un élargissement du diploée avec amincissement des tables internes et externes. Ces modifications lui donnent un aspect en « poils de brosse ».

Les anomalies de la face se traduisent par une hypertrophie des os maxillaires et maxillaires supérieurs donnant un faciès dysmorphique à un stade avancé avec :

- ✕ un front large avec saillie des bosses frontales
- ✕ des pommettes hautes et saillantes
- ✕ un hypertélorisme avec parfois un épicanthus
- ✕ un aspect « mongoloïde ».

. 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).

(11)(26)

c) Anomalies de la croissance et de la puberté

Elles se retrouvent dans les formes graves non splénectomisées qui s'accompagnent d'un retard staturo-pondéral important avec des déformations crânio-faciales et des altérations osseuses.

On retrouve une tendance au retard de croissance staturo-pondérale et pubertaire avec retard intellectuel et des troubles du caractère (ces derniers sont une conséquence de l'hémolyse et disparaissent après la splénectomie).

Actuellement, ces manifestations sont occasionnelles. (14)

d) Les ulcères de jambes

Complication classique mais rare (10 % d'après BOUSSER et collaborateurs) (26) de la sphérocytose héréditaire, elle peut parfois révéler la maladie. (14)

Ces ulcères sont (30)(31) :

- sans étiologie locale (sans cause neurologique ou vasculaire).
- présents chez l'adulte jeune très rarement chez l'enfant.
- localisés au niveau des jambes, bilatéraux, en région malléolaire.
- peu suintants mais très hémorragiques, le plus souvent douloureux.
- résistants à toutes thérapeutiques locales ou générales.

- guéris par la splénectomie avec persistance de cicatrices sidérosiques.

Leur pathogénie est incertaine.

e) Complications rares

§ Une maladie dégénérative de la moëlle épinière d'évolution lentement progressive apparaissant après 50 ans avec un processus démyélinisant a été décrite chez un petit nombre de malades. Elle pourrait résulter d'une anomalie de la spectrine. (14)

§ Hémosidérose et hémochromatose et de multiples maladies endocriniennes de surcharge : dues à la surcharge en fer conséquence de l'hémolyse et de multiples transfusions. (14)

§ Une hypergammaglobulinémie et une gammopathie monoclonale : l'hypothèse, selon laquelle la stimulation chronique du système réticulo-endothélial serait à l'origine de la transformation néoplasique des immunocytes a été émise. (14)

§ Une thrombose de la veine porte et des varices oesophagiennes. (14)

§ Un carcinome primitif de la vésicule chez un patient de 36 ans a été rapporté. (14)

§ Quelques rares cas d'ischémie cérébrale ont été observés. (32)

§ Stries angoïdes.

G. LE DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la sphérocytose héréditaire repose sur 2 critères :

- la mise en évidence d'un syndrome hémolytique
- le diagnostic spécifique d'espèce.

1. Le syndrome hémolytique

a) Anémie

En l'absence de crise hémolytique ou d'érythroblastopénie, elle est en général modérée.

- . la numération globulaire est de l'ordre de 3 à 4 millions/mm³
- . le taux d'hémoglobine varie de 8 à 11 g/100 ml
- . l'anémie est normochrome
- . le volume globulaire moyen (VGM) est conservé avec une surface membranaire qui est diminuée. L'anémie est normocytaire. (6)(11)

L'anémie peut manquer ou être discrète à cause de l'hyperactivité médullaire qui compense plus ou moins l'hémolyse. (33)

b) Signes de régénération globulaire

On note une compensation de la destruction périphérique excessive des hématies par la moëlle osseuse.

Les signes de régénération globulaire peuvent être au premier plan avec une érythroblastémie et une réticulocytose élevée. La moyenne de réticulocytose est située entre 10 et 15 %. (8) La recherche d'une hyperréticulocytose est un excellent test. (11) Le myélogramme n'est pas utile au diagnostic mais montrerait une moëlle très riche avec une érythroblastose de l'ordre de 45 à 70 % voire jusqu'à 90 %. (15)

On peut observer une moëlle mégaloblastique par carence en folates due à l'augmentation des besoins par l'érythropoïèse.

c) Signes d'hyperdestruction érythrocytaire

On retrouve :

- une augmentation de la bilirubine « non conjuguée » ou libre entre 20 et 40 micromoles/l (GALACTEROS). (34) Il y a un risque d'ictère nucléaire chez le nouveau-né.
- une augmentation discrète du fer sérique.
- une diminution du taux d'haptoglobuline (sans valeur en période néonatale) (35).
- la glycuconjugaison hépatique est maximale d'où une augmentation du stercobilinogène fécal et de l'urobiline.

2. Diagnostic spécifique d'espèce

a) Sphérocytose

La sphérocytose est la caractéristique morphologique de la maladie mais n'est pas spécifique de la sphérocytose héréditaire. (8)

Elle est retrouvée également dans d'autres désordres hémolytiques (incompatibilité ABO, infection néonatale ou anémie hémolytique autoimmune). (35)(36) Elle peut être masquée par une réticulose importante. Les globules rouges apparaissent sur les frottis sanguins comme (8) :

- des hématies denses, sans pâleur centrale (l'épaisseur corpusculaire est de 3,5 à 4 micromoles selon BOIVIN) (8).
- des hématies de petits diamètres de 6 à 7 microns.
- leur volume est conservé mais ils ont perdu leur forme biconcave (ils sont sphériques).

Cet aspect cellulaire sphérique lui valut autrefois le nom de microsphérocytose.

La sphérocytose varie d'un individu à l'autre et de façon non exceptionnelle chez un même sujet d'une période à l'autre. (8)

b) Etude de la résistance globulaire osmotique ou RGO ou test de fragilité osmotique (FO)

Ce test mesure la capacité des globules rouges à augmenter leur volume quand ils sont soumis à des degrés d'hypotonie variables.

Normalement, les globules rouges sont capables d'augmenter leur volume d'environ 70 % avant qu'une lyse ne se produise.

Les sphérocytes sont lysés pour des concentrations salines plus élevées que les cellules normales.

La diminution de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques, reflet de la sphéricité des érythrocytes, est corrélée à l'intensité de la sphérocytose.

Elle est non pathognomonique de la maladie car elle s'observe également dans les anémies hémolytiques autoimmunes et dans l'élliptocytose héréditaire.

C'est un bon critère diagnostique au cours des hémolyses constitutionnelles et cette diminution de la RGO serait présente dans 90 % des cas de maladie de Minkowski Chauffard. (8)

L'échantillon sanguin du sujet présumé porteur de sphérocytose héréditaire 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, après centrifugation et après 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 (3) :

- 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 la courbe témoin.

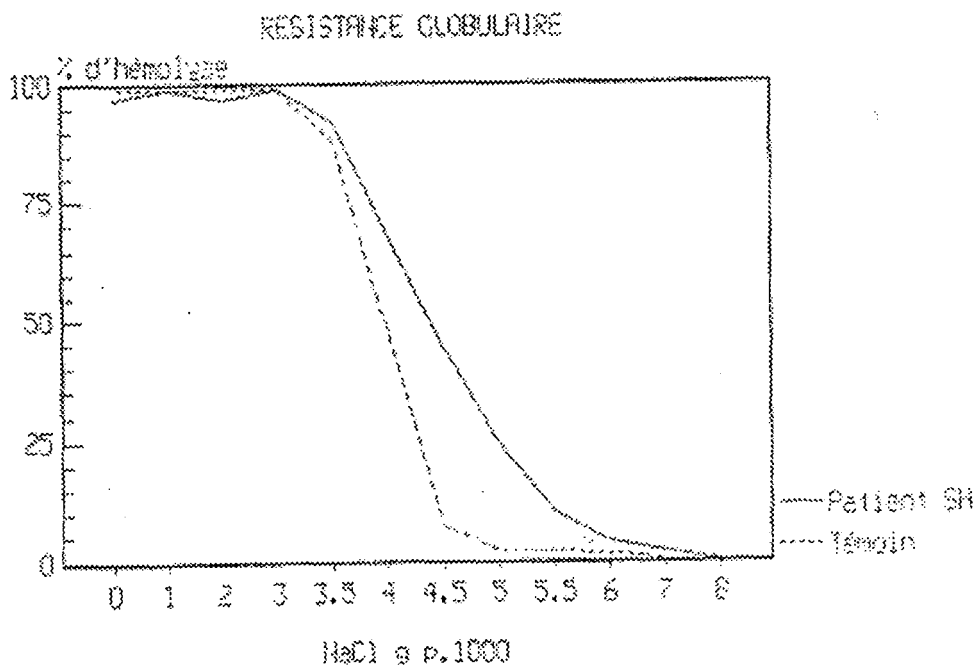
Par ailleurs, il existe une corrélation entre la sévérité des manifestations cliniques et l'augmentation de la fragilité osmotique. (37)

Le test peut être négatif ou douteux dans 20 à 30 % des cas dans les formes bénignes de la sphérocytose héréditaire et chez le nouveau-né. (38) Chez ce dernier, la sensibilité du test de résistance globulaire osmotique (RGO) avant incubation est diminuée, car les

globules rouges fœtaux sont osmotiquement plus résistants que les érythrocytes adultes.

Dans ce cas, la sensibilité du test peut être augmentée par la mesure de la RGO après incubation à 37°C pendant 24 H.

Quand le sang est en incubation à 37°C, les globules rouges 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 décrite précédemment (les conditions d'aseptie rigoureuse sont importantes car la contamination bactérienne augmente la lyse).



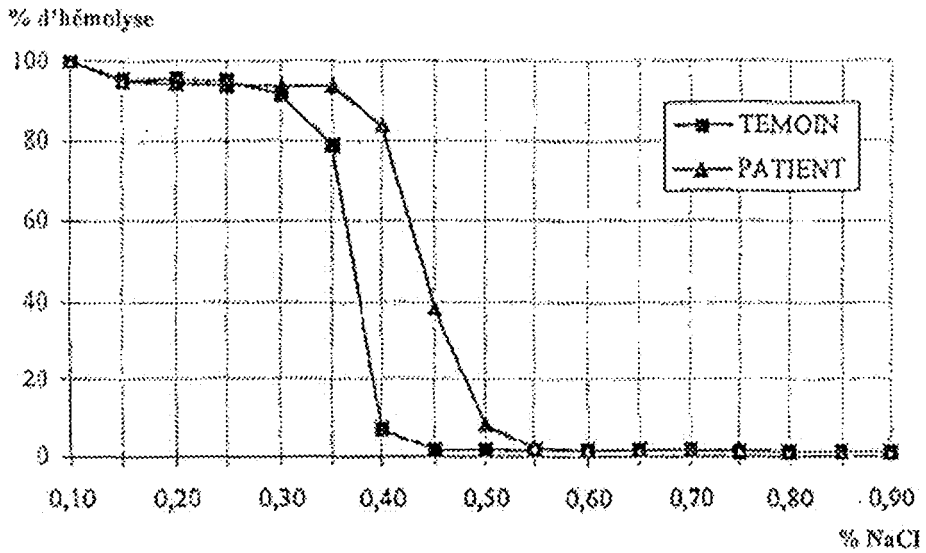
c) Autohémolyse

Par rapport à des globules rouges normaux, les sphérocytes incubés à 37°C dans leur propre plasma ont une autohémolyse augmentée à 24 h et surtout à 48 H.

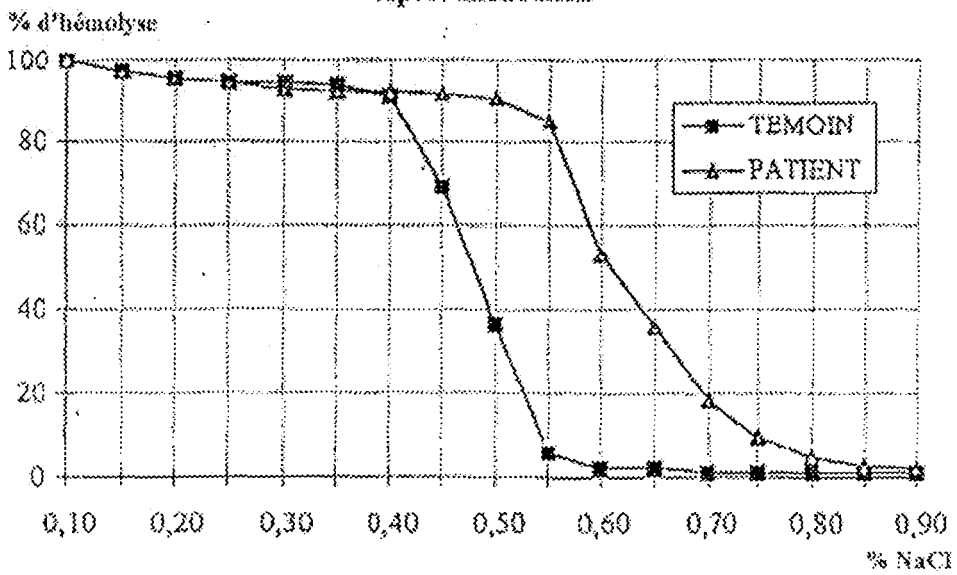
Elle est corrigée par l'adjonction de glucose ou d'ATP (besoin énergétique accru des globules rouges pathologiques). Cette correction peut toutefois manquer surtout s'il existe un pourcentage important de microsphérocytes. Ce test est très sensible mais peu spécifique (il est peu utilisé en routine).

Courbes de résistance globulaire osmotique chez un patient atteint de sphérocytose héréditaire

Avant Incubation



Après Incubation



d) « Glycérol Lysis Test » (39) - « Acidified Glycerol Lysis Test » (AGLT) (40) - « Acidified Glycerol Lysis Test modifié » (41)

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 globules rouges est ralentie par l'adjonction de glycérol.

On mesure le temps nécessaire à l'apparition de la lyse osmotique c'est-à-dire le temps pour que la densité optique (DO) chute de moitié par rapport à sa valeur initiale : AGLT 50 (les valeurs normales sont supérieures à 1500 s, dans la sphérocytose héréditaire elle est de 50 s). On fait toujours une comparaison avec un échantillon témoin. Le test AGLT est sensible à 100 % et peu coûteux, mais sa reproductibilité d'un laboratoire à un autre est mauvaise (instabilité du pH de la solution isotonique due au développement de microorganismes pendant le stockage à 4°C). Sa spécificité est faible (il existe de faux positifs en cas d'anémie hémolytique, d'insuffisance rénale et de grossesse).

e) Le Pink test (42)

C'est un test permettant l'étude de la fragilité osmotique en utilisant une solution différente de celle utilisée dans les tests

cités ci-dessus mais contenant du NaCl et du glycérol. L'osmolarité est fixe à 290 milliosmoles. Le pH est stable à 6,6.

Le test est réalisé sur du sang frais (moins de 3 H) et se fait en comparaison d'un échantillon témoin.

On met en contact les globules rouges avec la solution spécifique et après 30 mn d'incubation à température ambiante, on centrifuge l'ensemble à 2000 tours/mn pendant 7 mn. On mesure la densité optique du surnageant par spectrophotométrie à 540 nm et on définit ainsi la première absorbance.

On détermine la deuxième absorbance après adjonction dans le milieu de 2 à 3 gouttes de Triton X 100 et un délai d'attente de 5 mn. On détermine alors le rapport $\% \text{ hémolyse} = \frac{\text{1 ère absorbance}}{\text{2 ème absorbance}} \times 100$

Les valeurs d'un résultat normal sont comprises entre 0 % et 28,5 %, le test est pathologique si le résultat est supérieur à 28,5 %. La technique est reproductible, simple, rapide moins coûteuse que l'AGLT. Le test est très sensible (100 %) mais il existe des faux positifs quand il y a élliptocytose, anémie hémolytique autoimmune, 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 foétale et en cas de Bêtathalassémie.

f) Test de cryohémolyse (43)(44)(45)

Il s'agit d'un test décrit pour la première fois en 1985 qui permet de mesurer l'hémolyse des globules rouges placés dans des solutions hypertoniques après exposition à des températures basses (0°C).

Les sphérocytes placés dans les solutions hypertoniques sont plus sensibles que les globules rouges normaux à des variations brutales de température.

Comparé aux tests précédemment décrits, le test de cryohémolyse est plus rapide, sa sensibilité et sa spécificité sont de 100 %. Il est moins coûteux.

D'après STREICHMAN (44)(45), les tensions imposées au squelette membranaire lors du changement de température, met en jeu des protéines impliquées dans les interactions verticales et permet d'identifier les patients asymptomatiques chez lesquels une réduction de surface par rapport au volume est trop faible pour être détecté par le test de fragilité osmotique.

g) Etude isotopique de la durée de vie des globules rouges

Elle se fait par marquage des érythrocytes au Chrome 51 (Cr 51).

Elle permet de révéler :

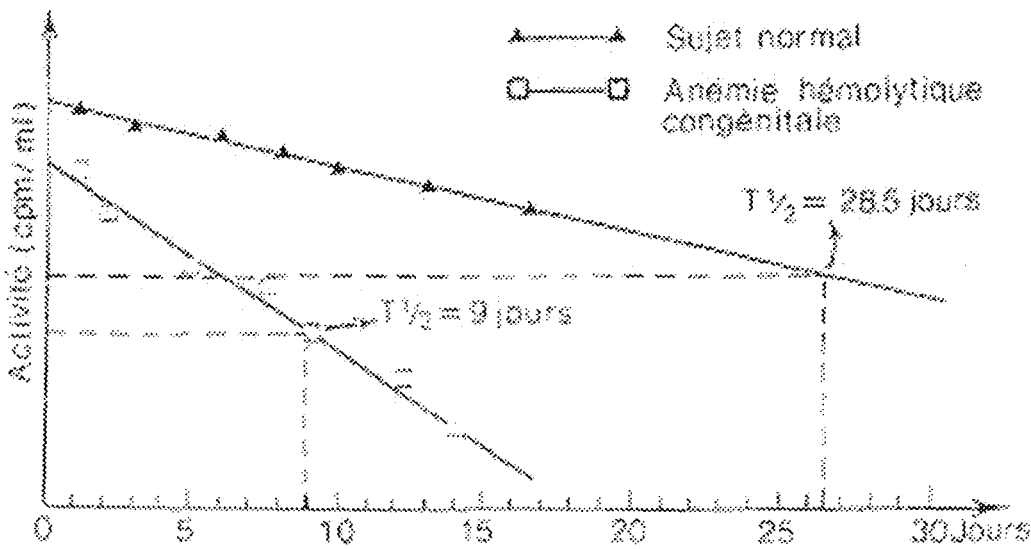
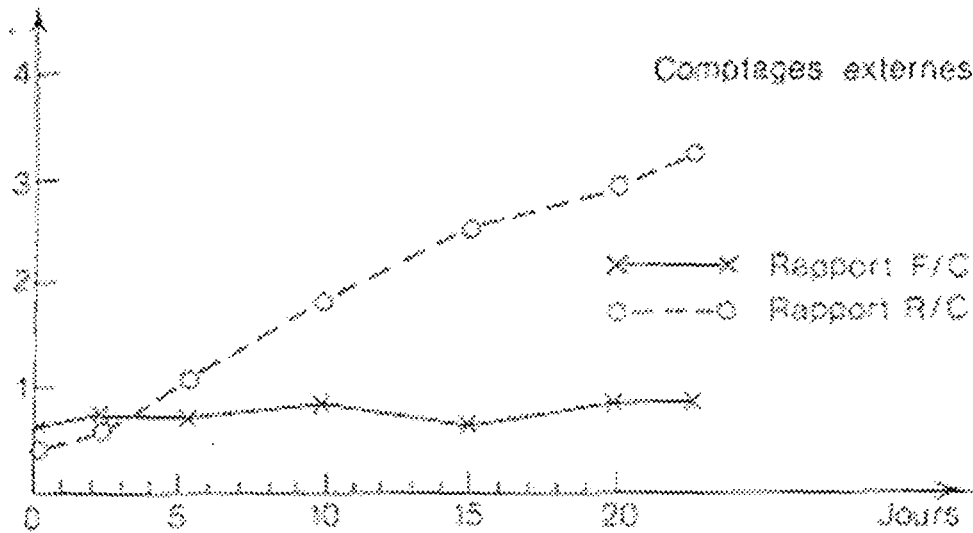
- une diminution de la vie des hématies d'environ 50 % (diminution de la demi-vie apparente des globules rouges entre 10 et 15 jours pour une valeur normale à 30 jours) (8)(12).

- une destruction sélective des globules rouges au niveau splénique signant l'hémolyse splénique.

On peut également utiliser le Fer 59 qui permet surtout d'étudier l'érythropoïèse.

Cette étude n'est pas nécessaire quand la sphérocytose héréditaire peut être affirmée avec certitude du fait d'un contexte familial caractéristique mais elle est indispensable dans les cas sporadiques.

(12) Les explorations isotopiques ne sont cependant pas adaptées à la période néonatale.



Mesure de la durée de vie des hématies après marquage au ^{51}Cr (autotransfusion) avec étude du site de destruction : ici séquestration splénique pure.

F = Foie. R = Rate. C = Coeur

En fait, on utilise essentiellement le ^{51}Cr .

h) Electrophorèse des protéines de la membrane du GR

La sphérocytose héréditaire correspond à une pathologie de la membrane des globules rouges et plus particulièrement de son cytosquelette.

La technique introduite par FAIRBANKS et collaborateurs (46) plus perfectionnée par LAEMLI et collaborateurs (47) a pour but de séparer sur un même gel (gel de polyacrylamide Sodium-Dodecyl-Sulfate (SDS)) les protéines majeures de la membrane érythrocytaire afin de calculer leur pourcentage respectif.

On peut alors quantifier chacune des protéines pour une étude densitométrique sur gel et mettre en évidence les anomalies moléculaires primitives inductrices d'hématies dysmorphiques (sphérocytes, érythrocytes, ovalocytes...) et de maladies hémolytiques.

Ces protéines anormales pourront être par la suite identifiées par la technique du WESTERN BLOT.

Les échantillons et solutions doivent être maintenus en permanence à 4°C.

Cette technique comprend plusieurs étapes, elle se réalise toujours en comparaison avec un sujet sain testé :

(1) Extraction des protéines totales de la membrane érythrocytaire

Après élimination des GB, les érythrocytes sont lysés (lyse ménagée osmotique et chimique) puis subissent une ultracentrifugation et un lavage jusqu'à obtenir une membrane blanchâtre (membrane érythrocytaire).

(2) Un dosage des protéines membranaires par méthode colorimétrique

(3) Une dissociation des protéines membranaires

obtenue par adjonction de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) détergeant ionique qui déroule les protéines en chaînes polypeptidiques allongées. Son action est complétée par celle d'un réducteur de pont disulfure qui sépare les sous-unités des protéines complexes.

(4) Une électrophorèse réalisée sur gel de polyacrylamide (PAGE)

Il s'agit d'une migration de protéines en fonction de leur poids moléculaire (PM) sous l'influence d'un champ électrique.

L'acrylamide polymérisé forme un gel en réseau qui permet un tamassage des protéines. Il existe des gels prêts à l'emploi :

- Gel avec gradient linéaire d'acrylamide qui piège des protéines par les mailles du réseau en fonction de leur poids moléculaire. Ainsi un

réseau peu serré en début de gel permet aux protéines de haut poids moléculaire de se séparer et un réseau plus serré en fin de gel niche les protéines de bas poids moléculaire.

- Gel avec gradient exponentiel d'acrylamide qui sépare mieux les protéines de poids moléculaire voisin.

En général, on prépare pour chaque patient deux plaques soumises à des champs d'intensité différente afin d'améliorer la discrimination spectrine-ankyrine sur la première et protéines 4,1 a et protéine 4,1 b sur la seconde.

(5) La révélation des protéines

s'effectue par un colorant (ex. bleu de Coomassie) puis par décoloration jusqu'à neutralisation du fond.

(6) L'analyse densitométrique s'effectue à 540 nm

Elle permet de quantifier chaque bande électrophorétique et dégage le phénotype des protéines de la membrane érythrocytaire du sujet testé en déduisant le gène mutant.

Cette technique n'est ni très précise, ni très sensible. Elle permet de détecter une anomalie chez environ 80 % des patients présentant une sphérocytose héréditaire.

Elle demande beaucoup de temps, un niveau technique élevé et n'est disponible que dans un petit nombre de centres.

Une méthode quantitative directe des protéines membranaires par RIA peut également être effectuée. (48) Cette technique semble plus sensible quand elle est réalisée sur des patients splénectomisés. (49)

i) Etude de la déformabilité : ektacytomètre

L'ektacytométrie 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. (50)(51)(52)(53)(54)

Il s'agissait d'une combinaison de techniques de rhéologie faite à partir de précédentes observations de TZANCK et BESSIS en 1947. (55)

Ces observations montraient que la mesure des axes de courbure des GR pouvait être faite par des méthodes de diffraction.

Au début, elle était appliquée sur des globules rouges déshydratés dans différents types d'anémies hémolytiques. (53)(54) Les plus importantes avancées techniques ont été réalisées par ces mêmes auteurs en collaboration avec des scientifiques du Technicom Instruments en mettant au point un automate d'analyse d'images (Groner et collaborateurs en 1980). (56)

(1) *Ektacytométrie à gradient osmotique (57)*

Il s'agit de la méthode la plus fiable pour le diagnostic des sphérocytoses quel que soit l'âge du patient et les formes les plus

bénignes de la maladie. (58)(59) Ce test permet d'étudier la déformabilité érythrocytaire en fonction de l'osmolalité du milieu, déformabilité qui est fonction de 3 paramètres que sont :

- la surface cellulaire
- le rapport surface/volume
- l'état d'hydratation de la cellule.

L'ektacytomètre est un viscosimètre de Couett transparent dans lequel les érythrocytes en solution sont soumis à des forces de cisaillement. Cette déformation est analysée par diffractométrie d'un rayon laser. L'image observée est circulaire au repos, devient ovale lorsque les cellules sont en mouvement. Le rapport de son petit axe sur grand axe définit une valeur arbitraire appelée Index de Déformabilité (ID) ou index d'élongation (IE). Le test consiste à mesurer l'ID pour des osmolalités croissantes. Lorsque l'on exprime l'ID en fonction de l'osmolalité on obtient une courbe en forme de cloche permettant de définir trois indices :

- l'ID en isotonie ID max reflet de la surface cellulaire pour une valeur O max, voisine de l'isotonie.
- la valeur de l'osmolalité en hypotonie pour laquelle l'ID s'annule donnant la valeur O min.
- la valeur de l'osmolalité en hypertonie pour laquelle l'ID maximum chute de moitié donnant la valeur O'.

La valeur O' est un reflet du rapport de la surface par rapport au volume de la cellule. Elle doit être voisine voire la même que la

valeur de l'osmolalité pour laquelle 50 % des cellules sont lysées au cours du test de fragilité osmotique.

La valeur O' est un reflet de la viscosité intra-cellulaire et donne donc des informations sur l'état d'hydratation cellulaire. La valeur O' chute d'autant plus que la CCHM est élevée.

On peut mettre en évidence trois modifications en comparant le profil de déformabilité osmotique entre sujets sains et porteurs de sphérocytose héréditaire :

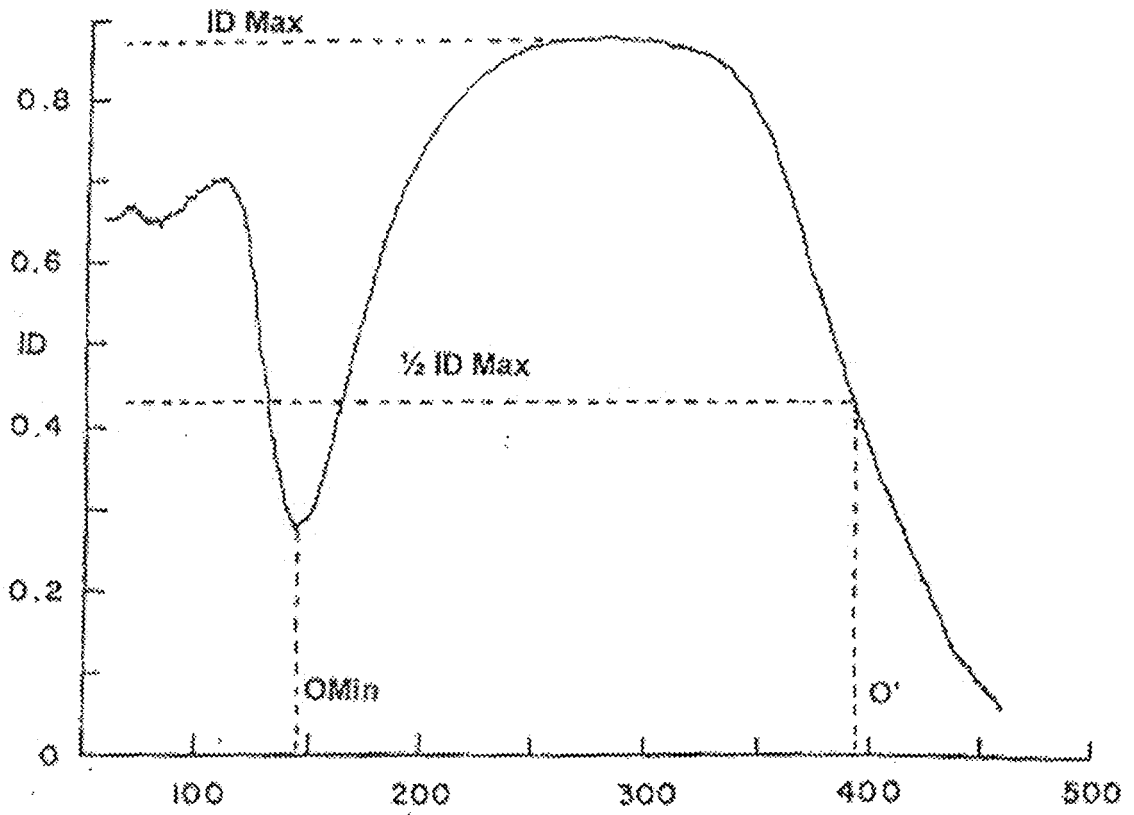
- une baisse du rapport surface/volume (la valeur O min augmente, elle traduit la fragilité osmotique).
- une baisse de la surface cellulaire (la valeur ID max diminue).
- une augmentation de la déshydratation cellulaire (la valeur O' chute).

Ces modifications ne sont pas constantes chez tous les porteurs de sphérocytose héréditaire.

Ektacytométrie :

Courbe de déformabilité osmotique de globules rouges

normaux



OSMOLALITE - MOSMOL/KG

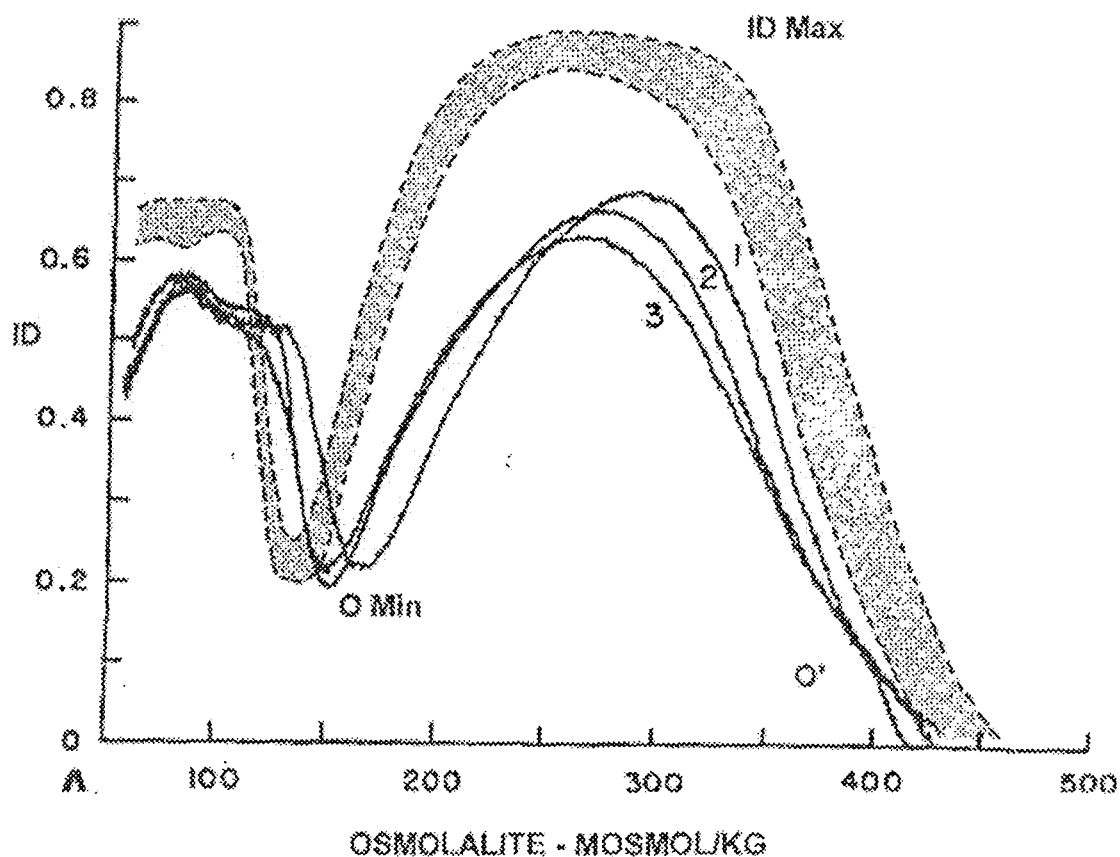
ID : Indice de déformabilité

O Min : valeur de l'osmolalité en hypotonie pour laquelle l'ID s'annule

O' : valeur de l'osmolalité en hypertonie pour laquelle l'ID maximum chute de moitié

ID Max : ID en isotonie

Ektacytométrie :
Courbe de déformabilité osmotique chez 3 patients
atteints de sphérocytose héréditaire



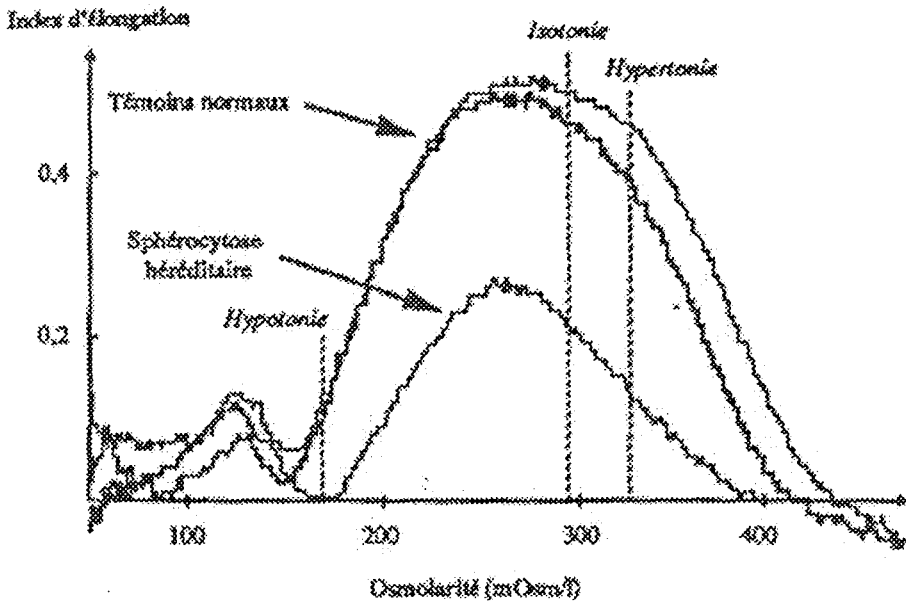
ID : indice de déformabilité

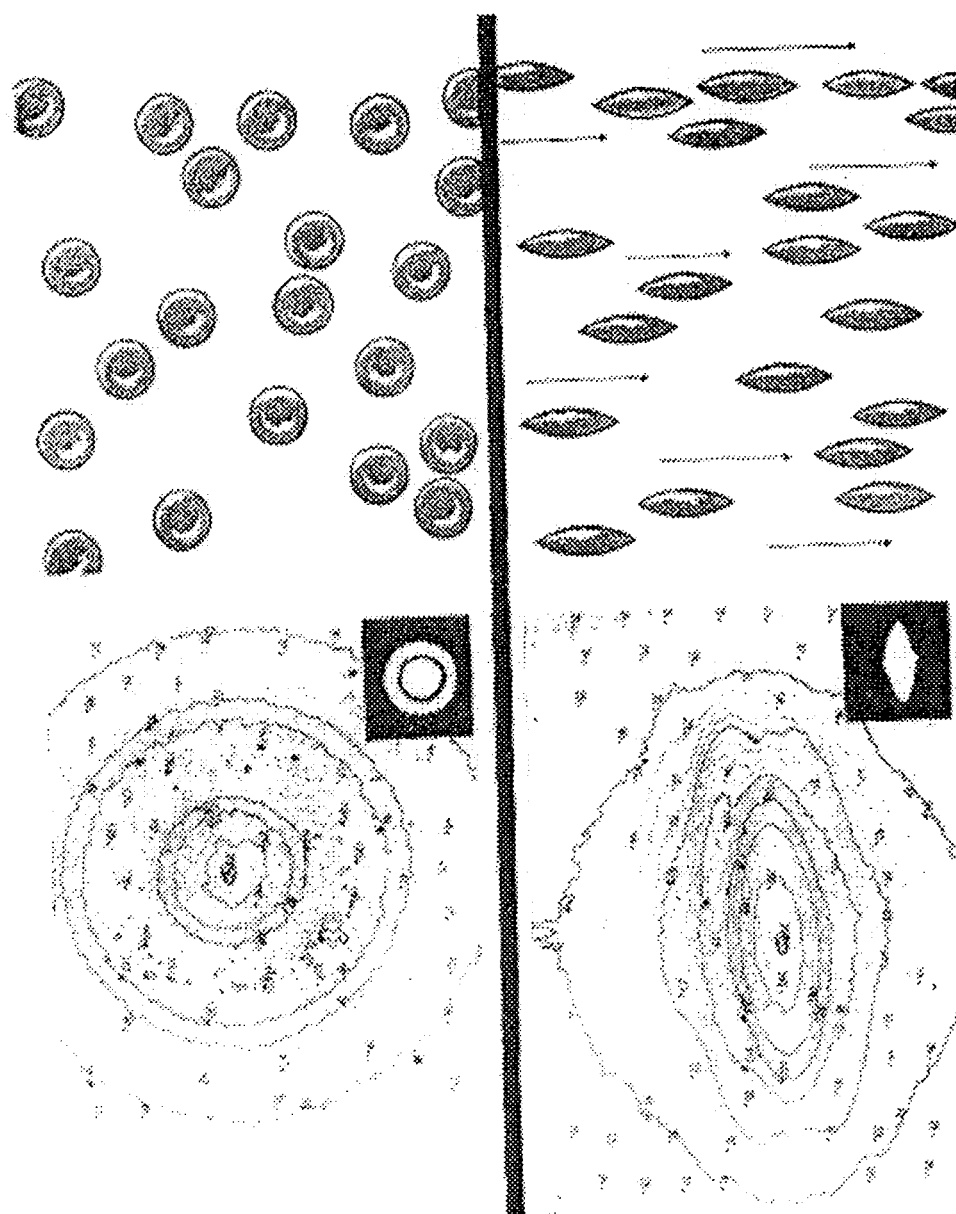
O Min : valeur de l'osmolalité en hypotonie pour laquelle l'ID s'annule

O' : valeur de l'osmolalité en hypertonic pour laquelle l'ID maximum chute de moitié

ID Max : ID en isotonie

La zone hachurée représente la zone de normalité. Dans la sphérocytose héréditaire, la courbe de déformabilité est comprimée, montrant une augmentation de O Min, une diminution de O' et une diminution de ID max





Images de diffraction observées dans l'ektacytomètre. En haut: schéma de l'aspect des cellules, au repos, puis soumises à des forces de cisaillement de 110 dynes/cm^2 . En bas: images diffractométriques correspondantes et analyse géométrique.

(2) Fragmentation des membranes (50)(59)

La mesure par ektacytométrie se fait en continu. Ceci permet de déterminer le temps nécessaire à la fragmentation des membranes cellulaires sous de fortes contraintes de cisaillement. Cette mesure quantitative de la stabilité mécanique des membranes est difficile à

obtenir par d'autres méthodes. Elle représente un des grands intérêts de l'ektacytométrie.

De fortes contraintes de cisaillements (1300/1500 dyn/m²) sont nécessaires pour fragmenter les érythrocytes.

Lors de différentes études, il était apparu que la viscosité interne cellulaire était principalement déterminée par les CCHM et que pour un stress donné l'élongation de la cellule était différente selon la CCHM. De cette façon, la CCHM modifie la stabilité intrinsèque de la membrane sur le temps de fragmentation.

Des trois facteurs déterminant la flexibilité de l'érythrocyte, deux sont réduits à des niveaux négligeables par le processus :

- du fait d'un moindre contenu en hémoglobine des stromas, leur viscosité interne est très basse
- le rapport surface/volume étant élevé, on diminue l'effet de ce facteur sur la déformabilité.

Comme soluté, on utilise un polymère avec un index de réfraction élevé et une viscosité appropriée (on utilise le Dextran T40 à des concentrations de 30 à 40 % ou encore du Stractan). (60)

La mesure de viscosité de toutes les solutions utilisées par l'ektacytomètre, doit être faite avant et celle-ci doit être ajustée aux valeurs données par la procédure décrite par HEALTH et collaborateurs. (61) Les leucocytes sont éliminés par passage du sang à travers une colonne en cellulose. Les érythrocytes sont lavés 30 fois dans une solution saline et phosphatée à température ambiante.

Après chaque lavage, les cellules sont récupérées par centrifugation à 15000 tours par mn pendant 1 mn et refroidies à 4 °C puis lysées dans un bain réfrigéré de NaPi à Ph 8 avec EDTA et 20 microgrammes/ml de phénylméthylsulfonyl fluoride (PMSF).

Après 5 mn à 0°C, les stromas sont récupérés par centrifugation à 15000 tours/mn pendant 10 mn, le surnageant est récupéré par aspiration. Les membranes sont mises en suspension dans 150 dl de PBS et incubées pendant une heure à 37°C, à nouveau centrifugées pendant 10 mn à 18000 tours/mn et le dernier surnageant est récupéré. Les mesures donnent une courbe définissant un $T \frac{1}{2}$ pour la fragmentation qui est une mesure de stabilité de membranes :

$T \frac{1}{2}$ pour EI = EI 0/2. Un $T \frac{1}{2}$ bas est un test simple et définitif pour le diagnostic d'anomalie du cytosquelette. Ce test peut détecter des anomalies pour des globules rouges d'apparence normale.

(3) *Ektacytométrie à oxygène (50)(59)*

Plusieurs laboratoires ont réalisé des modifications de leur ektacytomètre pour contrôler la pression en oxygène dans le viscosimètre afin d'étudier la déformabilité des cellules pathologiques. En effet, la déformabilité d'érythrocytes normaux n'est pas affectée par des variations de PO₂. (62)(63)

Des modifications techniques ont été nécessaires pour générer et

mesurer les variations de P02 dans le viscosimètre. (63) Deux systèmes ont été expérimentés :

- système de Sorette et collaborateurs (1987) (64).
- système de Johnson et collaborateurs (1985 et 1989) (59)(65).

permettant de mesurer les variations de cellules sous les variations de P02, la P02 étant mesurée par une électrode de Clark placée en dehors du cylindre. La déformabilité des cellules est mesurée par l'ektacytomètre durant les variations de P02. On obtient :

- pEI50 c'est la P02 pour une variation de EI de 50 %, elle mesure la relation entre O2 et la rigidité cellulaire.
- EI max c'est l' EI pour une oxygénation complète des cellules.
- EI min c'est l'EI pour une désoxygénation complète des cellules.

Les résultats sont exprimés sous la forme suivante :

$$\Delta EI = \frac{(EI \text{ max} - EI \text{ min}) \text{ cellule traitée}}{(EI \text{ max} - EI \text{ min}) \text{ cellule non traitée}} \times 100$$

(4) Etude en biologie moléculaire

La méthode par Polymérase Chain Reaction permet d'étudier la mutation responsable de sphérocytose héréditaire au sein de l'ADN pour les gènes impliqués. Son intérêt principal est d'étudier les protéines impliquées dans la sphérocytose mais elle a également un intérêt pour le diagnostic anténatal dans certaines familles.

H. STRUCTURE MOLECULAIRE DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE

1. Forme et déformabilité cellulaire

L'érythrocyte est une cellule de morphologie régulière et, biconcave, de 7 micromètres de diamètre.

Cette forme traduit un excès de surface cellulaire (140 μm^2) d'environ 50 % par rapport à une sphère de même volume (90 μm^2).

Le globule rouge est réduit à un cytoplasme constitué d'hémoglobine pour l'essentiel et à une membrane cytoplasmique qui l'entoure.

Dépourvu de nucléus, de mitochondrie, de ribosome et d'acide nucléique, il est incapable de synthétiser de nouvelles protéines.

Pendant les 120 jours de durée de vie dans l'organisme, le globule rouge traverse plus de 100 000 fois la circulation, subissant d'importantes contraintes mécaniques et métaboliques.

Il doit :

- négocier le passage de capillaire de 2 à 3 micromètres de diamètre au niveau splénique
- résister aux turbulences sanguines des gros vaisseaux
- supporter des variations rapides et intenses d'osmolarité (au niveau du tubule rénal), de pH et de pO_2 (au niveau du rein et du muscle).

La propriété essentielle à la survie du globule rouge est sa déformabilité cellulaire. La déformabilité cellulaire dépend de trois paramètres :

- la géométrie cellulaire
- la viscosité du cytoplasme
- la déformabilité membranaire.

a) La géométrie cellulaire

Le globule rouge, disque biconcave de 7 micromètres de diamètre, a un rapport surface/volume élevé à l'origine d'un surplus important de membrane et de cytosquelette ce qui lui permet de s'expandre dans les milieux isotoniques, de se distendre et de se déformer sous les contraintes mécaniques.

b) La viscosité du cytoplasme

Déterminée par la teneur en hémoglobine (CCHM), la viscosité intervient peu dans la déformabilité du globule rouge quand les concentrations intracellulaires en hémoglobine sont normales. Par contre, quand les érythrocytes sont déshydratés, la concentration intracellulaire en hémoglobine majore la viscosité et diminue la déformabilité cellulaire.

c) La déformabilité et la stabilité membranaire

La déformabilité membranaire est la propriété de l'ensemble membrane-cytosquelette. Elle détermine la distension de la membrane sous l'effet d'une contrainte. Si la contrainte est excessive ou prolongée, la déformation peut être permanente, et aboutir à la fragmentation de l'érythrocyte. La stabilité membranaire se définit comme la déformation maximale réversible tolérée par la cellule. Cette déformabilité et cette stabilité dépendent de la topographie et de la fixation du cytosquelette à la bicouche lipidique de la membrane plasmique.

I. LES COMPOSANTS DE LA MEMBRANE ERYTHROCYTAIRE ET DU CYTOSQUELETTE

La membrane du globule rouge ou stroma ou « Ghost » (en terminologie anglo-saxonne) peut être débarrassée de son contenu soluble par hémolyse hypotonique. La membrane plasmique du globule rouge est composée de :

- 52 % de protéines
- 40 % de lipides
- 8 % de glucides.

Les lipides forment une double couche de phospholipides opposés par leur côté hydrophobe alors que leurs parties hydrophiles sont orientées vers la périphérie de la bicouche. Deux types de protéines sont incluses :

- protéines intrinsèques ou transmembranaires, qui traversent la bicouche lipidique de part en part.

- protéines extrinsèques situées au niveau du feuillet interne lipidique et forment le cytosquelette membranaire du globule rouge.

Les protéines sont nommées en fonction de leur mobilité au cours de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS).

1. Les lipides membranaires

Les lipides totaux représentent environ 40 % de la membrane totale.

Les principaux constituants sont les phospholipides (65 à 70 % des lipides totaux) et le cholestérol (20 à 25 %) non estérifié auxquels s'ajoute une petite quantité d'acides gras libres et de glycolipides.

Ces molécules sont organisées en une bicouche de 75 Å d'épaisseur.

Ces phospholipides sont répartis de la façon suivante (66)(67) :

- phosphoglycérilcholine (lécithine) 30 % (PC)
- phosphatidyléthanolamine 27 % (PE)
- sphingomyéline 22 % (MS)
- phosphatidylsérine 14 % (PS)
- phosphatidyl inositol 4-5 biphosphate 2 % (PIP2).

Ces phospholipides se répartissent de façon très asymétrique dans les deux feuillets de la bicouche. (68)(69) PC et MS faiblement chargés prédominent dans le feuillet externe. PE et PS 80 % des phospholipides fortement chargés sont situés dans le feuillet interne.

Le cholestérol diffuse librement dans et à travers la bicouche.

Les phospholipides ont tendance à passer d'un feuillet à l'autre selon un phénomène appelé « flip flop ». Ces mouvements transversaux, bien que peu importants, sont suffisants pour maintenir l'asymétrie durant toute la vie du GR (120 jours).

Relation lipides/protéines membranaires :

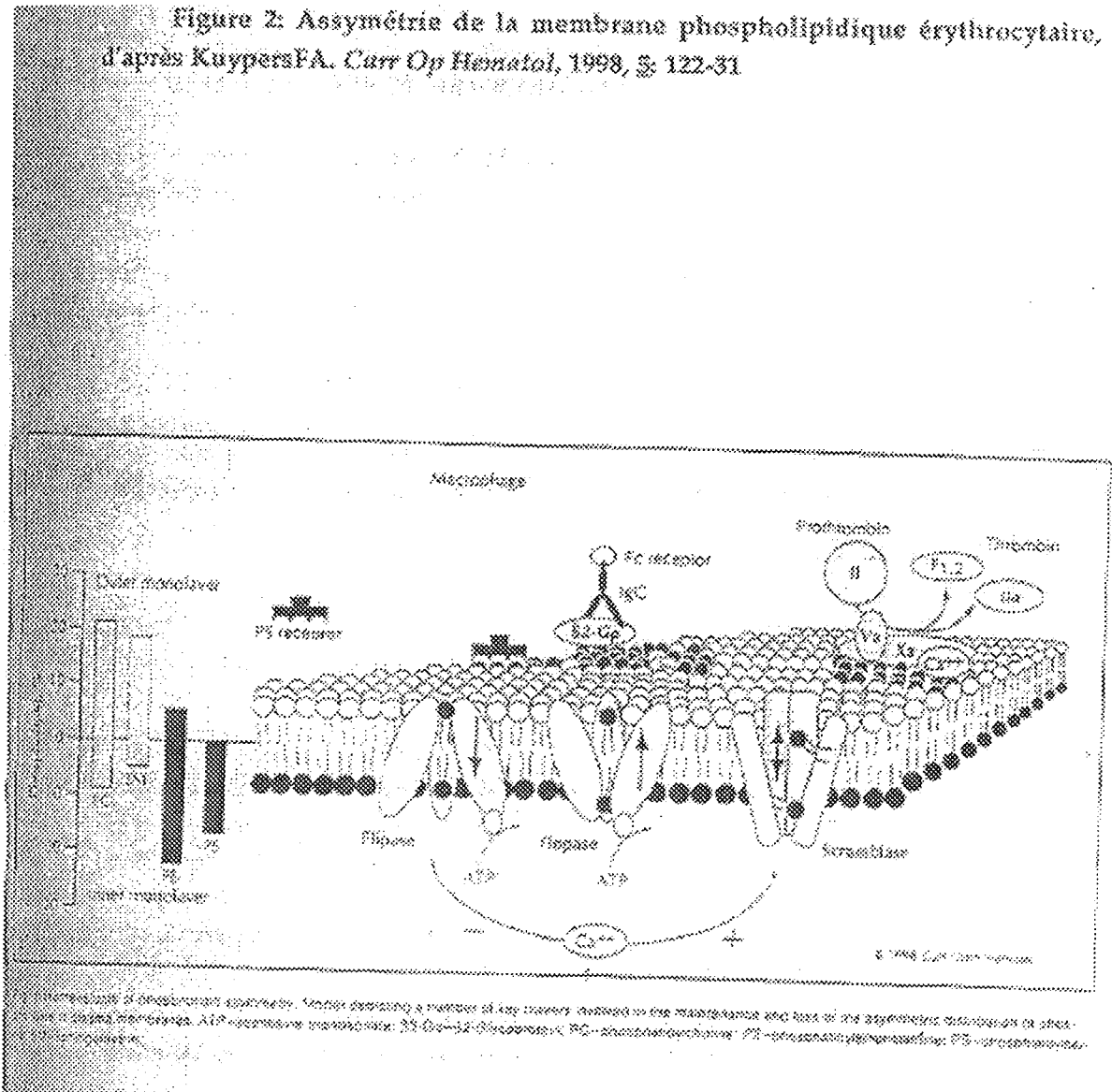
Les aminophospholipides (phosphatidylsérine et phosphatidyl-étanolamine) subiraient un transport actif (ATP dépendant) au sein de la membrane du feuillet externe vers le feuillet interne. (70)

Les lipides sont en relation étroite avec les protéines membranaires. Il existe des interactions hydrophobes avec les protéines intrinsèques (protéines bande 3). Les têtes polaires de phosphatidylsérine interagissent avec la spectrine et la protéine 4,1. (71)

Une association spécifique ou aspécifique peut se faire entre la couche bilipidique et les protéines acylées (protéine 4,2 qui est myristoylée ankyrine acylée par l'acide palmitique). (72) Certains

phospholipides modulent les interactions entre protéines membranaires (ex. : la protéine 4,1 se lie à la glycophorine C uniquement en présence de polyphosphoinositides). (73)

Figure 2: Assymétrie de la membrane phospholipidique érythrocytaire, d'après Kuypers FA. *Curr Op Hematol*, 1998, 5: 122-31



2. Glucides

Ils représentent moins de 10 % de la masse membranaire. Ils sont très liés aux glycophorines (93 % des glucides) ou à des sphingolipides (7 %). Ce sont des sites récepteurs pour les molécules telles que les anticorps ou les hormones. Ils sont très immunogènes et constituent les déterminants antigéniques de certains groupes sanguins (ABO : glycolipides et groupe sanguin MN : glycoprotéines).

3. Les protéines membranaires (74)

A côté de la bicouche lipidique, la membrane érythrocytaire est composée de protéines de type :

- intrinsèques ou transmembranaires : qui traversent de part en part la double couche lipidique et participent à la stabilité.
- extrinsèques sous-membranaires qui constituent l'armature du squelette érythrocytaire.

Elles représentent 50 % de la masse membranaire. Il est possible de dissoudre la bicouche lipidique dans un milieu de force ionique élevée en présence d'un détergent (Triton X 100) et d'extraire le cytosquelette.

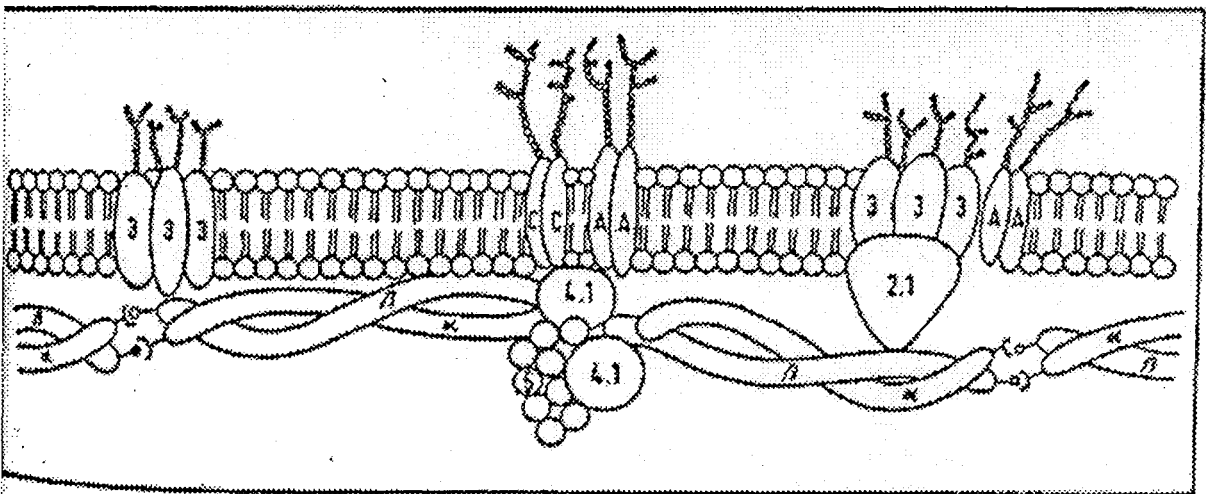
Les différentes protéines peuvent alors être individualisées par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide (SDS) Sodium Dodecyl Sulfate et identifiées en fonction de la mobilité. On définit alors les

bandes principales et les sous-bandes (portant le numéro de la bande principale, ajouté d'un décimal, ex : bande 4,1 bande 4,2).

Certaines de ces protéines ont changé de nom par la suite :

- les bandes 1 et 2 correspondent aux chaînes Alpha et Bêta de la spectrine.
- la bande 3 correspond au transporteur d'anions.
- la bande 4 correspond à l'actine.
- la bande 4,2 correspond à la pallidine.

Certaines bandes comme la bande 4,2 ont conservé leur appellation d'origine.



Représentation schématique de la structure de la membrane érythrocytaire.

3 : protéine 3 ; 2,1 : ankyrine ; 4,1 : protéine 4,1 ;

α : chaîne α de la spectrine ; β : chaîne β de la spectrine ;

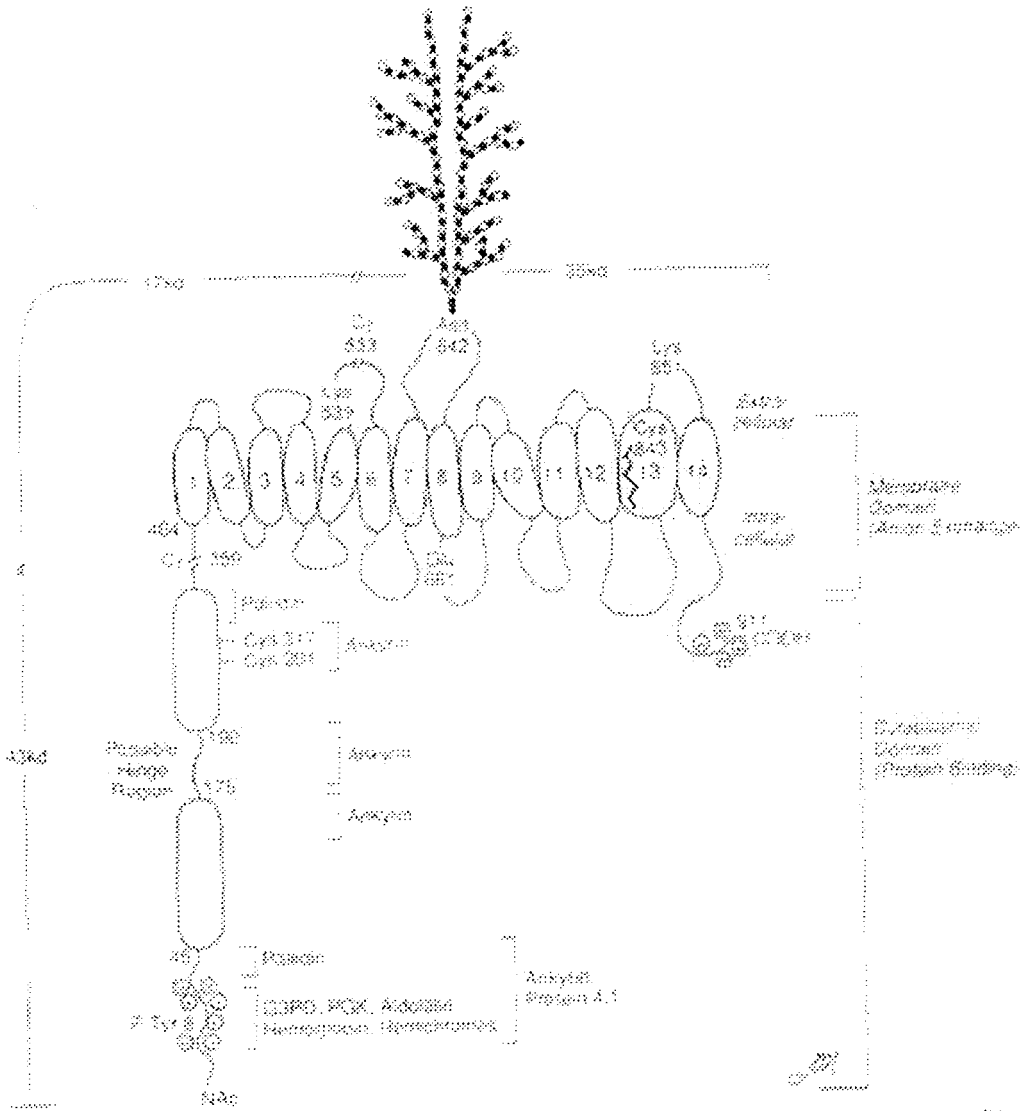
5 : actine ; A : glycophorine A ; C : glycophorine C.

a) Les protéines intrinsèques ou transmembranaires (75)(76)

(1) *Protéine bande 3 ou échangeuse d'anions ou Anion Exchanger 1 (AE1)*

Elle correspond à la bande 3 de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS PAGES). C'est la principale protéine intrinsèque de la membrane (60%). Il s'agit d'une protéine de 102 kD, elle présente 1,2 10⁶ copies par érythrocyte et comprend 911 acides aminés répartis en deux domaines de l'extrémité N vers l'extrémité C terminale :

- un domaine cytoplasmique de 403 AA auquel s'ajoute un autre domaine cytoplasmique de 29 AA. Ces deux domaines semblent jouer un rôle dans les insertions au maintien de la membrane érythrocytaire mature (77)
- un domaine membranaire de 479 AA.



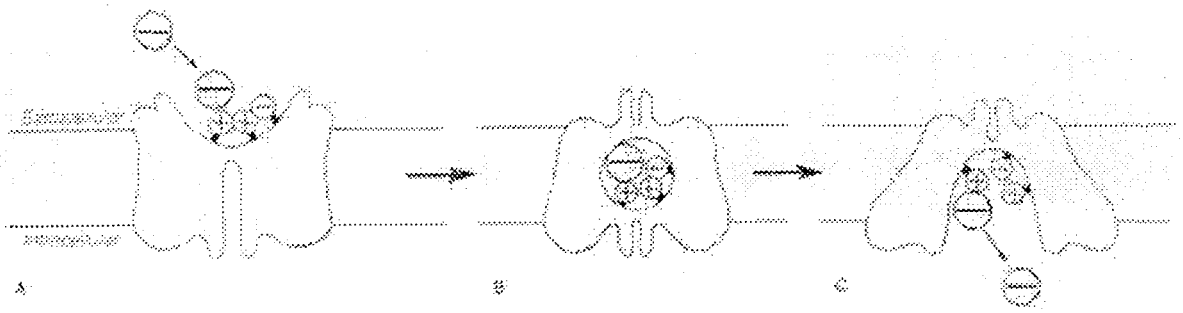
Modèle d'organisation de la protéine bande 3 (anion exchanger) de l'érythrocyte humain

(a) *Le domaine cytoplasmique de 43 kD*

Il est situé au niveau de l'extrémité N terminale de la molécule, est fortement acide, porte des groupes sulphydriles et au moins deux sites de phosphorylations et aurait des liaisons avec les enzymes cytosoliques. Il assure, grâce à ses liaisons à l'ankyrine, aux protéines 4,1 et 4,2 et à la spectrine, l'ancrage du cytosquelette à la membrane. Il comporte également des sites de fixation pour l'hémoglobine, les enzymes glycolytiques. Sa liaison avec les hémichromes constituerait un marqueur de la sénescence érythrocytaire.

(b) *Le domaine membranaire ou transmembranaire de 55 kD (78)*

Constitué par la région C terminale de la molécule, il serpente à travers la couche bilipidique, et se replie en 12 à 14 segments ou hélices. Il assure l'échange chlore/bicarbonate (canal transporteur d'anions). De plus, sa portion la plus externe porteuse de radicaux glycosidiques et sulphydriles interagit avec le milieu extérieur. (79) Le gène EPB3 codant pour cette protéine est localisé au niveau du chromosome 17 en région 17q21-qter et contient 20 exons. Plusieurs mutations de ce gène ont été découvertes et associées à plusieurs maladies : sphérocytose héréditaire, ovalocytose du Sud Est Asiatique, choréacanthocytose, acidose tubulaire distale familiale (car cette protéine AE1 a été identifiée au niveau du rein).



Modèle de transport d'anions par la protéine bande 3

b) Les glycoporynes (75)

Les glycoporynes peuvent être mises en évidence par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS PAGE) avec une révélation au réactif PAS (réactif de SCHIFF à l'acide périodique), coloration spécifique des esters de l'acide sialique.

Il existe quatre types de glycoporynes (80) : A B C D, dénommées ainsi car porteuses de radicaux glycosidiques dirigés vers l'extérieur de la cellule.

Les glycoporynes trans-membranaires sont les plus abondantes dans les globules rouges. Elles comprennent trois domaines :

- un domaine N terminal externe richement glycosylé hydrophile.
- un domaine trans-membranaire unique lipophile.
- un domaine cytosolique.

Riches en acide sialique, elles permettent la coloration des globules rouges par le PAS et se définissent en 6 à 7 bandes sur le tracé électrophorétique.

- La glycophorine A est la forme majeure (75 % des glycophorines totales). Elle se présente sous forme oligomérique ou dimérique dans la membrane. Elle correspond à la bande PAS II, la bande PAS I étant un dimère du PAS II. Elle présente des liaisons avec la protéine 3 et porte les déterminants antigéniques des groupes sanguins M et N. Il existe environ 370 000 copies de la glycophorine A par cellule. La glycophorine A faciliterait l'expression de la protéine bande 3 et augmenterait son transport dans la membrane. (81)

- La glycophorine B de petit poids moléculaire porte les antigènes des groupes sanguins N et SS. Son tracé électrophorétique est situé entre les bandes 4 et 5 pour la forme dimérique delta 2. Glycophorines A et B sont codées par un gène situé sur le chromosome 4 en région 4 q 28 q 31.

- Les glycophorines C et D sont une deuxième famille des glycophorines et dérivent du même gène situé sur le chromosome 2 en région 2 q 14 q 21. Elles véhiculent les antigènes du système Gerbisch. Les glycophorines C interagissent avec les protéines p55 pour le fixer sur la protéine 4,1 d'où le nom de glycoconnectine. (82) Elles jouent un rôle important dans la forme, la stabilité et la déformabilité de la membrane érythrocytaire.

L'analyse structurale et les séquences complètes des acides aminés ont été établies :

- Glycophorine A compte 131 AA.

- Glycophorine B compte 72 AA.

- Glycophorine C compte 128 AA.
- Glycophorine D compte 107 AA.

c) Autres protéines transmembranaires

- La stomatine : protéine transmembranaire codée par un gène situé sur le chromosome 9 en région 9 q 33 q 39 de rôle inconnu.
- L'aquaporine CHIP (Channel forming Integral Protein) : codée par un gène localisé sur le chromosome 7 p 14, joue un rôle de canal d'échange d'eau et contribue ainsi à l'adaptation du globule rouge aux variations d'osmolarité.

4. Les protéines extrinsèques

Les principales protéines extrinsèques constituant le cytosquelette du globule rouge sont la spectrine, l'actine, la protéine 4,1, la protéine 4,2, la protéine 4,9, l'ankyrine et l'adductine. (83)

a) La spectrine (75)(76)(84)(85)(86)

C'est le composant protéique majeur du cytosquelette (75 % des protéines). Elle est nécessaire au maintien de l'intégrité de la membrane du globule rouge, il en existe 200 000 copies par cellule. C'est un hétérodimère composé de deux chaînes hautement homologues, Alpha et Bêta, de masses moléculaires respectives de 280 kDa et 240 kDa. Elles correspondent aux bandes 1 et 2 du

tracé électrophorétique SDS PAGE. Le gène de la chaîne Alpha est localisé sur le chromosome 1 et le gène de la chaîne Bêta sur le chromosome 14. (85)(87)(88)(89)

Chaque dimère Alpha Bêta de spectrine forme une fibre de 100 nm de long sur laquelle on définit une portion céphalique et une portion caudale. La portion céphalique débute par l'extrémité N terminale de la chaîne Alpha et par l'extrémité C terminale de la chaîne Bêta. Les deux chaînes Alpha et Bêta s'alignent et s'entrelacent de manière antiparallèle et donnent un hétérodimère flexible en forme de bâtonnet. Les dimères s'associent en tétramère puis en oligomère. L'unité fonctionnelle est le tétramère.

On peut isoler les différents segments des chaînes Alpha et Bêta par digestion ménagée (par la trypsine à 0°C) suivie d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS. La chaîne Alpha est faite de cinq segments (90) :

- le segment Alpha 1 (80 kDa) supporte le site de tétramérisation.
- les segments Alpha 2 et Alpha 3 (46 kDa) sont responsables du polymorphisme génétique de la race noire.
- les segments Alpha 4 et Alpha 5 ont un poids moléculaire respectif de 52 kDa et 41 kDa. La chaîne Bêta est composée de quatre peptides : β I, β II, β III et β IV de masses moléculaires respectives : 40-65-33-75 kDa. Le segment β I comprend le site de tétramérisation et les sites de phosphorylation de la spectrine. Le segment β II joue un rôle avec le segment β I dans la liaison avec

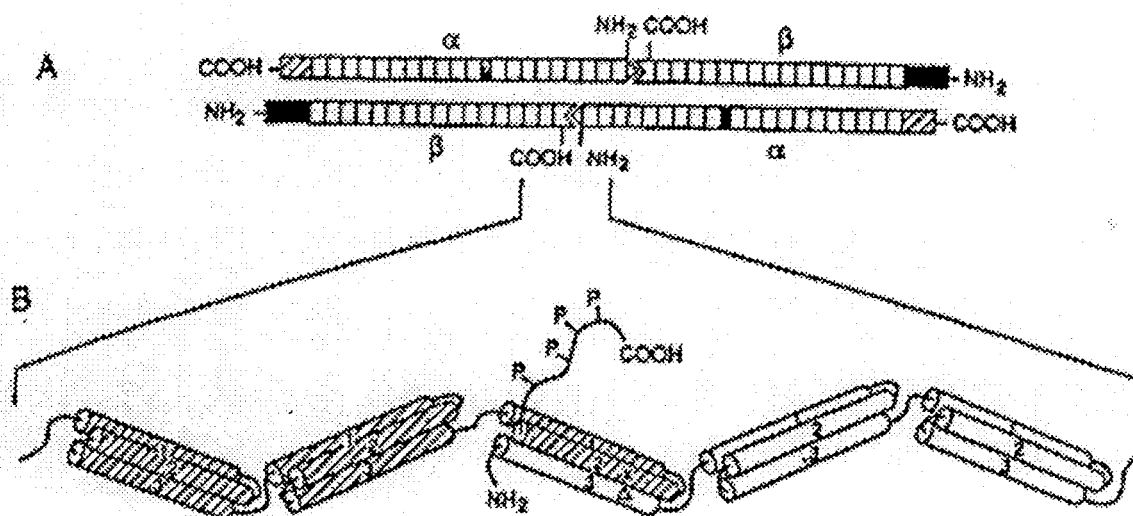
l'ankyrine. Le segment β IV porte des sites d'interaction avec la protéine 4,1 et l'actine. Sur les segments β I et β II, on trouve le site d'interaction spectrine/ankyrine au niveau de la séquence basale en AA β 15 ou β 16. Les sous-unités α et β sont constituées d'une séquence basale répétitive de 106 AA répétés 21 fois pour la chaîne α et 17 fois pour la chaîne β et de segment intermédiaire. Chaque répétition se repliant sur elle-même donnant ainsi une forme de trois hélices A B C liées par de courtes séquences. La spectrine par sa structure et ses interactions maintient l'architecture cellulaire et joue un rôle dans la mobilité bilatérale des protéines intrinsèques et dans la stabilité de la double-couche lipidique.

Enfin, deux sites jonctionnels sont importants :

- la spectrine s'associe à la membrane érythrocytaire par l'intermédiaire d'autres protéines du cytosquelette notamment par la sous-unité 15 de la chaîne β à l'ankyrine qui se lie également à la protéine 4,2 et la bande 3
- le second site constitué par l'association de la spectrine à la protéine 4,1 qui se lie elle-même à la bicouche lipidique par l'intermédiaire de la glycophorine C. La spectrine, la protéine 4,1 et l'actine forment donc un complexe jonctionnel ternaire où viennent se greffer les protéines 4,9 et la tropomoduline.

L'étude de l'ADN du génome et de l'expression de l'ARN messager a permis de mettre en évidence l'existence de protéines structurellement et immunologiquement analogues à la spectrine

dans les membranes de plusieurs cellules : cérébrales (frodine), intestinales, du cristallin, du muscle (dystrophine). Ces différentes isoformes ont une chaîne α voisine de la spectrine érythrocytaire et une chaîne β différente et spécifique.



b) L'actine (75)(86)

L'actine érythrocytaire ou β actine correspond à la bande 5 de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS, a une masse moléculaire de 45 kDa et présente à 500 000 exemplaires par cellule. Elle apparaît sous une forme particulière de protofilaments. (91) Elle compte un nombre limité de monomères. Trente monomères s'associent pour former une double échelle hélicoïdale courte (35 nm) de 15 monomères. La limitation de polymérisation de l'actine serait due à une « acting copping factor » qui serait la protéine 4,9 qui joue le rôle de protéine de coiffage (elle encapuchonne les moignons

d'actine et évite l'apparition de microfilaments inutiles). En moyenne 6 spectrines s'associent sur chaque oligomère d'actine pour former une structure hexagonale avec la protéine 4,1 et jouer le rôle de pièce maîtresse de squelette membranaire. (74)(92)(93)(94)

c) La protéine 4,1 (75)(86)

La protéine 4,1 d'une masse moléculaire de 80 kDa, est présente à 800 000 copies par cellule. A l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS, elle se sépare en deux composants :

- protéine 4,1 a MM = 80 kDa
- protéine 4,1 b MM = 72 kDa (majoritaire dans l'érythrocytaire).

Le rapport de ces deux isoformes 4,1 a/4,1 b varie selon l'intensité de la réticulocytose et avec l'âge cellulaire (elle augmente avec l'âge). Ces deux isoformes ont une fonction et une structure identique mais diffèrent par leur extrémité carboxy terminale. (95) L'étude par protéolyse a permis de définir quatre domaines :

- un domaine de 30 kDa situé au niveau de l'extrémité N terminale comportant un site de fixation pour les glycophorines (C P et E) rôle dans l'ancrage du cytosquelette dans la bicouche lipidique et un site de phosphorylation protéine kinase C dépendant
- un domaine central de 16 kDa.
- un domaine de 10 kDa comprenant un site de fixation pour l'actine et la spectrine. La protéine 4,1 joue donc un rôle dans la formation du complexe jonctionnel (spectrine actine protéine 4,1).

- un domaine de 22 à 24 kDa situé au niveau de l'extrémité C terminale comprenant un site de phosphorylation, AMP cyclique dépendant. La protéine 4,1 occupe donc une place privilégiée dans l'organisation du squelette membranaire érythrocytaire grâce à sa grande affinité pour la spectrine et à sa fonction stabilisatrice de l'architecture membranaire. Le gène codant pour la protéine 4,1 se situe sur le chromosome 1 en région 1q33p34.2. (74)(92)(94)(95)(96)

d) L'ankyrine (75)(76)(86)

L'ankyrine est une protéine d'ancrage important du cytosquelette de la membrane. Elle se lie à la spectrine chaîne Bêta sous-unité 15, aux protéines intrinsèques de la membrane et à la partie cytoplasmique de la bande 3.

Elle est représentée à 100 000 copies par cellule et correspond à la bande 2,1 de l'électrophorèse par gel de polyacrylamide SDS. Elle est codée par un gène unique situé sur le chromosome 8 en région 8p11.2 qui génère également de nombreux isoformes érythrocytaires ou non. (93)(94)(97) L'ankyrine présente au niveau du cerveau humain est codée par un gène du chromosome 4.

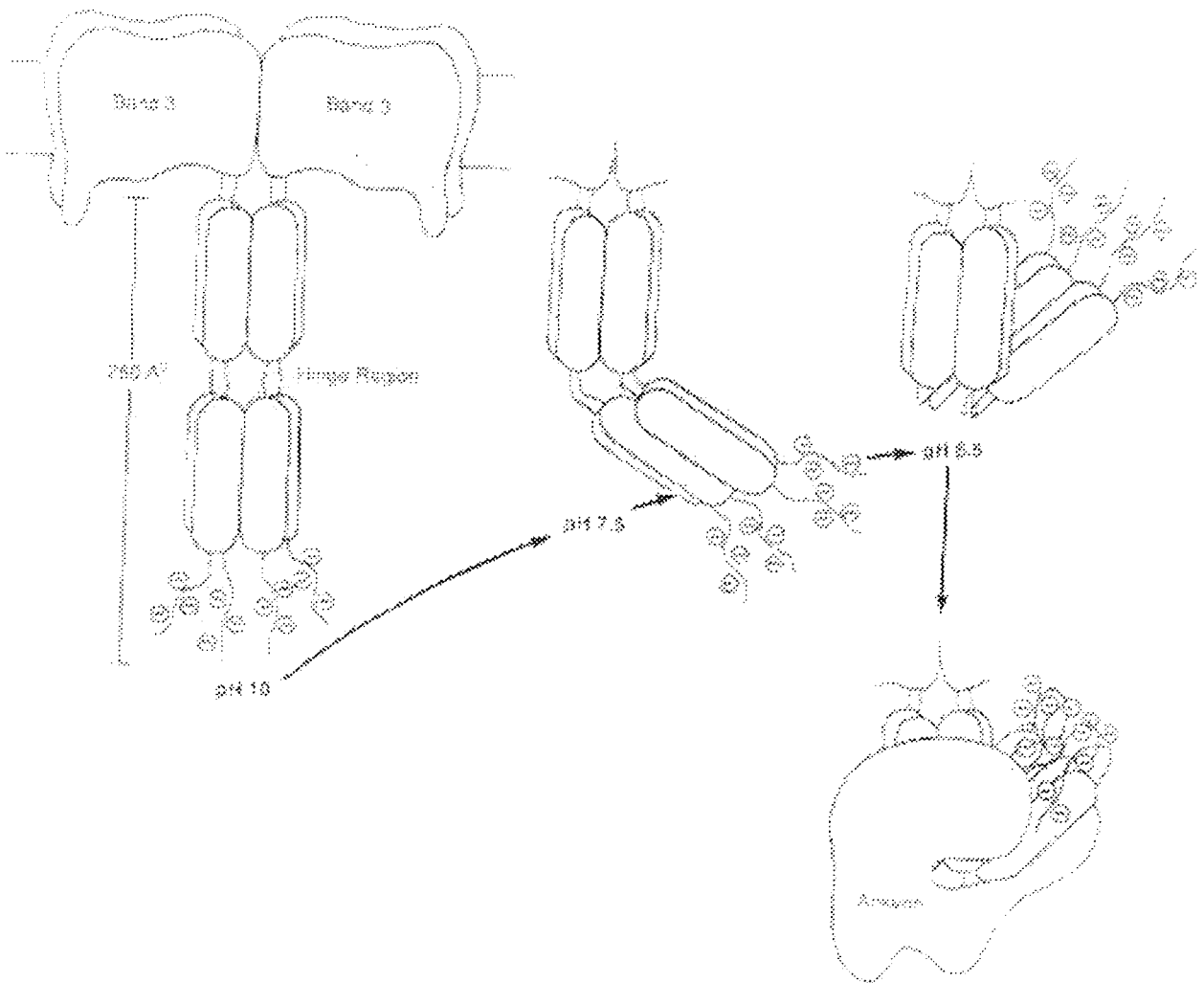
Trois formes d'ankyrine existent au niveau de la membrane érythrocytaire :

- le composant majeur : protéine 2,1 515 kDa
- deux polypeptides mineurs : protéine 2,2 et 2,3 de masses moléculaires respectives de 186 et 160 kDa.

Chacune comporte trois domaines distincts définis après clivage chymotrypsique (97) :

- un domaine de 89 kDa situé au niveau de l'extrémité N terminale qui se lie au segment cytoplasmique de la protéine bande 3.
- un domaine de 83 kDa contenant les sites de fixation pour la spectrine Bêta (un tétramère de spectrine pour une molécule d'ankyrine).
- un domaine de 55 kDa situé au niveau de l'extrémité C terminale porteur d'un site de phosphorylation qui régule les deux fonctions de l'ankyrine.

La liaison ankyrine et tétramère de spectrine diminue. La liaison ankyrine et protéine bande 3 diminue. Cette phosphorylation est dépendante d'une caséine kinase et d'une protéine kinase AMP cyclique indépendante. (98)



Changement de conformation du domaine cytoplasmique de la protéine bande 3 régulé par les interactions avec l'ankyrine

e) Protéine 4,2 ou pallidine (75)(76)(86)

C'est une protéine de 72 kDa dont il existe 200 000 copies (5 % des protéines totales de la membrane du globule rouge).

Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 15 en région 15q14-q15, avec une transcription en deux isoformes :

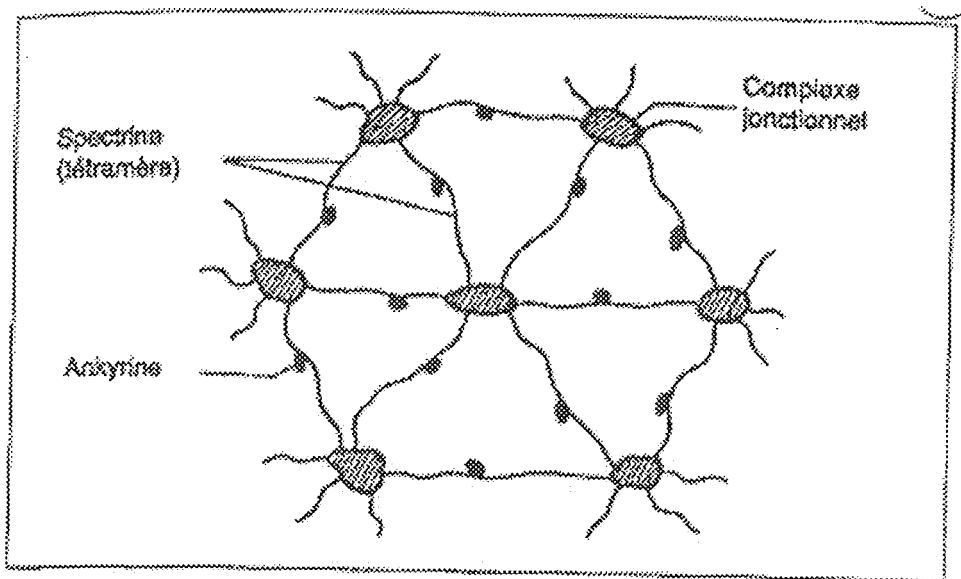
- un isoforme principal long protéine 4,2 L
- un isoforme mineur plus court protéine 4,2S.

La pallidine est une protéine globulaire de 691 AA dont la structure est proche de celle de la glutaminase.

Elle a des liaisons saturées avec le domaine cytoplasmique de la protéine bande 3, l'ankyrine et la protéine 4,1. Son rôle principal est de stabiliser l'association du complexe spectrine/actine/ankyrine avec la protéine bande 3 mais aussi de maintenir la forme et la déformabilité du globule rouge. Elle est myristolée ce qui lui permet d'interagir avec la couche bilipidique.

5. Organisation du cytosquelette érythrocytaire

Le cytosquelette érythrocytaire apparaît en microscopie électronique sous la forme d'un filet protéique continu souple, mais résistant, plaqué et fixé à la face interne de la bicouche bilipidique. Il joue un rôle dans la stabilité et la déformabilité de la membrane.
(74)(96)(98)



*Maille élémentaire du squelette érythrocytaire.
 Les rayons et les côtés des hexagones correspondent à des tétramères de la spectrine.
 Les tétramères convergent vers les complexes jonctionnels où ils interagissent avec
 l'actine, la protéine 4.1, l'adducine et de nombreuses autres protéines; * : ankyrine.*

Deux types d'interactions sont mises en jeu :

- les interactions horizontales qui assurent l'organisation de la trame protéique. (92)(94)(96)(98)(99)(100)
- les interactions verticales qui fixent le réseau protéique sur la couche lipidique.

a) Les interactions horizontales

La maille élémentaire du filet protéique est hexagonale dans 90 % des cas parfois pentagonale ou heptagonale. Elle est composée par :

- les tétramères de spectrine : ce sont les rayons et les côtés de l'hexagone, la première interaction horizontale est assurée par l'autoassociation des dimères Alpha et Bêta de spectrine en tétramère.

- les complexes jonctionnels : ils sont situés sur les sommets de l'hexagone, ils sont composés d'actine, protéine 4,1, adductine et de nombreuses autres protéines. La deuxième interaction horizontale correspond à l'association de l'extrémité caudale du dimère de spectrine avec l'actine en renforçant ainsi le complexe jonctionnel. De la bonne articulation entre spectrine, protéine 4,1 et de l'actine/les interactions horizontales, dépend la réalisation du maillage élémentaire et donc de la morphologie du globule rouge. Les propriétés mécaniques du globule rouge sont fonction de celles des protéines du cytosquelette.

b) Les interactions verticales (100)

Elles permettent de fixer le cytosquelette à la bicouche lipidique et mettent en jeu les protéines 4,1 et l'ankyrine qui se lient à la trame protéique avec le domaine cytoplasmique des protéines transmembranaires (protéine bande 3 et glycophorine). (92)(94)(96)(98)(99)

La première interaction verticale lie la spectrine Bêta (segment Bêta I et Bêta II) au domaine cytoplasmique de la protéine bande 3 avec interaction de l'ankyrine et de la protéine 4,2.

La deuxième interaction verticale lie le complexe jonctionnel au domaine cytoplasmique de la glycophorine C et de la protéine 4,1. L'adductine intervient également dans cette liaison.

En plus de cette connection interprotéique, la spectrine et la protéine 4,1 se fixent plus faiblement à la phosphatidylsérine présente dans la couche bilipidique. Au repos, les segments constitutifs de la spectrine se replient en une triple hélice. Quand une déformation survient, il y a réorganisation du filet protéique.

Certaines molécules de spectrine se déroulent et s'étirent, d'autres s'enroulent et se contractent, d'où une modification de la forme de la cellule sans variation de la surface de la membrane cellulaire.

Les limites de la déformabilité cellulaire sont celles de l'allongement et de la contraction des filets protéiques. Si la déformabilité est trop importante avec une augmentation de la surface membranaire, il y a rupture des liaisons avec le cytosquelette au niveau du complexe jonctionnel. La cellule est alors déformée ou fragmentée de façon permanente.

J. ANOMALIES MOLECULAIRES DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE

Le premier déficit en protéine membranaire révélé par les analyses biochimiques du squelette membranaire chez le patient atteint de sphérocytose héréditaire, a été celui de la spectrine. (101)

Puis les études génétiques sur familles porteuses de sphérocytose

héréditaire ont permis de découvrir un déficit en ankyrine mais en fait, dans la majorité des cas, c'est un déficit combiné en spectrine et ankyrine qui est en cause. (102)(103)(104)(105)

Actuellement, il semble que la sphérocytose héréditaire soit due à un déficit en protéines ayant un rôle dans les interactions verticales entre bicouches lipidiques et squelette membranaire.

L'étude des protéines membranaires par SDS PAGE ou méthode de RIA (RadioImmunoAizey) a permis d'identifier quatre anomalies différentes :

- déficit isolé en spectrine dans 30 % des cas.
- déficit combiné en spectrine/ankyrine dans 30 à 45 % des cas. Des analyses quantitatives par RIA montrent que le déficit en spectrine et ankyrine est équivalent et que le SDS PAGE semble sous-estimer le déficit en ankyrine. (104)(105) De plus, une hyperréticulocytose élevée peut majorer un déficit en ankyrine car les réticulocytes sont plus riches en ankyrine que les cellules matures (106).
- déficit en bande 3 dans 20 % des cas.
- déficit en protéine 4,2 retrouvé plus fréquemment chez les populations japonaises. (107)

Longtemps, on a distingué les formes familiales de la sphérocytose héréditaire de transmission autosomique dominante (75% de la population) et les formes sporadiques (25 % de la population). On a pu démontrer que les formes sporadiques correspondent la plupart du temps à une transmission autosomique récessive, mais l'existence de

la sphérocytose héréditaire due à des mutations « DE NOVO » n'est pas totalement exclue. (108)(109)(110)(111)

On regroupe ces formes autosomiques récessives et les mutations « DE NOVO » sous le terme de sphérocytose héréditaire non dominante. Les mutations concernant les gènes de la spectrine, de l'ankyrine, de la protéine bande 3 et de la protéine 4,2 ont été découvertes. On peut les regrouper en cinq types (76)(86) :

- mutation du cadre de lecture : délétion ou insertion d'un nombre variable de nucléotides d'où une altération de l'extrémité C terminale de la protéine.
- mutation non sens avec un arrêt prématuré de la traduction et formation d'une protéine tronquée.
- mutation faux sens correspondant à la substitution d'une paire de base.
- mutation du site d'épissage : épissage anormal de la transcription.
- délétion importante du génome.

Ces déficits moléculaires ont pour conséquence une baisse de la stabilité des messages de transcription de l'ARN messager, 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.

Il existe des isoformes pour la chaîne Bêta de la spectrine, de l'ankyrine, de la protéine bande 3, de la protéine 4,2. Ils s'expriment dans d'autres tissus avec des manifestations extra-érythrocytaires. (103)(113)(114)

1. Déficit en spectrine

Le déficit en spectrine est la première des anomalies moléculaires à avoir été identifiée chez des patients porteurs de sphérocytose héréditaire. (76)(108) 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 (108), le patient présentant une forme non dominante de la sphérocytose héréditaire, 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. (115)

Les mutations de la chaîne Alpha de la spectrine étaient associées aux formes récessives alors que les mutations de la chaîne Bêta 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 Bêta ainsi la synthèse de la chaîne Bêta de la spectrine est un facteur limitant pour la formation d'hétérodimères Alpha, Bêta de spectrine. Un déficit en chaîne Bêta s'exprimera à l'état hétérozygote. (76)

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 Bêta). (85)(115)(116) Le premier cas rapporté de la chaîne Alpha spectrine se trouvait situé sur le cordon 969 (969 Ala ® Asp) et a été retrouvé présent chez 50 % des patients présentant une forme sévère récessive de sphérocytose héréditaire. Il apparaît maintenant que cette présumée mutation représente un variant polymorphique variant Alpha II a domaine Alpha II à la spectrine ou spectrine Bug Hill (115) qui quand il est associé à une mutation du gène SPTA 1, c'est cette deuxième mutation qui est responsable de la maladie. (76)(116) Un de ces patients avec une forme sévère récessive Alpha II a a été étudié. (76)(116) 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.
- l'autre héritée de sa mère sur l'intron 30 donnant un ARN messager aberrant produisant en quantité six fois moindre l'ARN messager = Alpha spectrine LEPR (Low Expression Prague). Cette interaction

entre la mutation Alpha LEPRA avec le variant polymorphique Bug Hill pourrait être à l'origine de 50 % des cas de sphérocytose héréditaire récessive.

Mutations du gène de la chaîne α de la spectrine responsables de sphérocytose héréditaire

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

Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
LEPRA	1449	4339-99C>T	Cadre de lecture	épissage
Prague	1730	5187-2A>G	Cadre de lecture	Epissage

Le nom de la mutation correspond à la ville d'origine du patient chez lequel cette mutation a été mise en évidence la première fois.

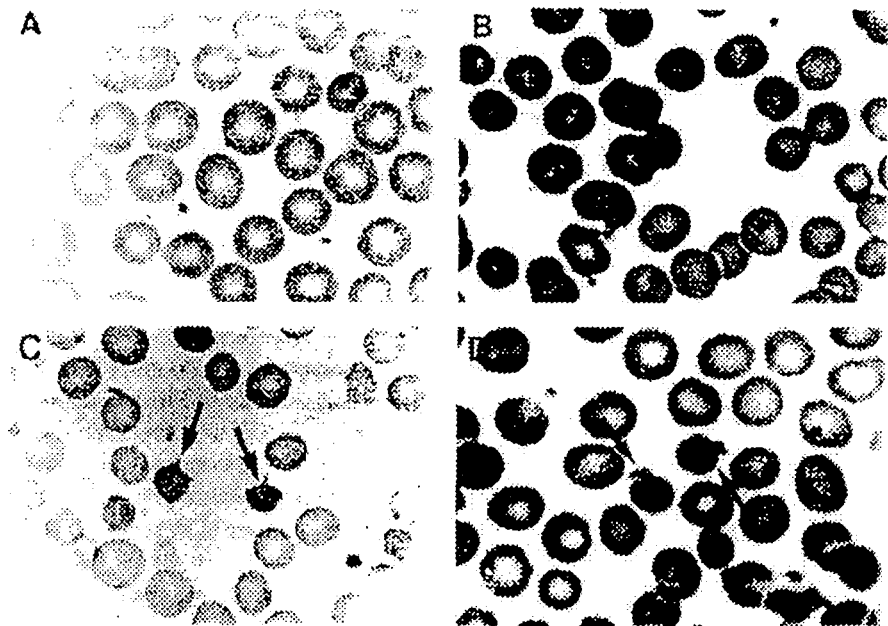
b) Déficit en chaîne Bêta de la spectrine

La grande majorité des déficits en spectrine est liée à des mutations de la chaîne Bêta de la spectrine (SPTB). La première mutation apportée concernait un point de mutation codant sur la partie N terminale de la chaîne Bêta de la spectrine donnant une variante de la chaîne Bêta avec spectrine instable et plus sensible aux phénomènes oxydatifs et liaison anormale du complexe spectrine/protéine 4,1 et glycophorine C.

Il s'agit de la mutation spectrine Kissimee. (76)

La plupart des mutations sont des mutations non sens (spectrine Baltimore et Tabor) ou du cadre de lecture (spectrine Bergen, Houston, Ostroava, Philadelphia, Gemini-Penfor) provoquant une perte d'expression de l'allèle correspondant responsable d'un transcript instable d'où un déficit en spectrine. Plusieurs mutations faux sens ont également été décrites (spectrine Colombus, Promissao, Atlanta, Kissimee, Oackland, Birmingham) conduisant à une réduction d'expression de la protéine normale ou à une protéine non fonctionnelle ne s'exprimant qu'à l'état homozygote.

Il existe une fréquence élevée de mutation de Novo monoallélique de la chaîne Bêta de la spectrine qui se transmet sur le mode autosomique dominant (spectrine Kissimee, Durham, Winston-Salem) (111), ceci concerne environ 50 % des cas de sphérocytose héréditaire sans antécédent familial et lié à un déficit isolé en spectrine. Dans tous les cas, les déficits de la chaîne Bêta dans la sphérocytose héréditaire (111)(117)(118), 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 spiculés qu'on appelle des acanthocytes et qui ne sont pas retrouvés dans les autres formes de sphérocytose héréditaire.



Moelle osseuse : A individu normal

B patient avec sphérocytose héréditaire (sphérocytes)

C patient avec sphérocytose héréditaire et déficit en Bêtaspectrine (acanthocytes, cellules denses et spéculées)

D patient avec sphérocytose héréditaire avec déficit en protéine bande 3 (cellules en forme de champignons caractéristiques)

Mutations du gène de la chaîne β de la spectrine responsables de sphérocytose héréditaire

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

Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Promissao	1	MIV	faux sens	Absence de traduction
Guemene-Penfao	100	300G>C	cadre de lecture	épissage

Atlanta	182	W182G	faux sens	
Unnamed	189	G189A	faux sens	? épissage
Kissimmee	202	W202R	faux sens	
Ostrava	202	604delT	cadre de lecture	1-nt délétion
Oakland	220	I220V	faux sens	
Bicetre	444	1331-1338del8	cadre de lecture	8-nt délétion
Alger	514	Q514X	non sens	
Philadelphia	590	1767-1768insA	cadre de lecture	1-nt insertion
St Barbara	638	1912del	cadre de lecture	1-nt délétion
Bergen	785	2351-2352insA	cadre de lecture	1-nt insertion
Baltimore	845	Q845X	non sens	
Houston	926	2777delA	cadre de lecture	1-nt délétion
Winston-Salem	1188	3764+1G>A	320 codon délétion	Epissage
Columbus	1227	P1227S	faux sens	
Durham	1492	L1492-K1614del	123 codon délétion	4.6-kb délétion
Birmingham	1684	R1684C	faux sens	
Sao Paulo	1884	A1884V	faux sens	
Tabor	1946	Q1946X	non sens	

2. Déficit en ankyrine

Les premières études ont laissé supposer que l'anomalie initiale de la membrane dans le cadre d'une sphérocytose héréditaire résultait

d'un déficit en ankyrine avec translocation du chromosome 8 ou délétion du bras court du chromosome 8. (103)(110)(113)

Certaines sphérocytoses héréditaires sont liées à un déficit combiné en spectrine et en ankyrine, le déficit en spectrine étant secondaire (119), mais d'autres auteurs ont montré que le déficit en ankyrine et spectrine est quantitativement équivalent. (104)(105)

Chez environ un tiers des patients présentant un déficit en ankyrine et spectrine, un des deux allèles de l'ankyrine a une expression réduite avec diminution ou instabilité de la transcription du gène.

Il existe des mutations de Novo d'un des deux allèles de l'ankyrine avec diminution d'expression. Elles sont fréquentes chez les enfants nés de parents sains (Napoli I, Bugey) (110)(120). Dans cette étude, on conclut que 50 % des patients présentant une sphérocytose héréditaire sans antécédent familial, sont porteurs d'une mutation monoallélique du gène de l'ankyrine : mutation de Novo produisant un ARN messenger instable. Un couple sain ayant un enfant avec sphérocytose héréditaire liée à une mutation de Novo du gène ANK 1 a un risque très faible d'avoir un autre enfant atteint (inférieur à 5 %) alors que ce risque est de 25 % en cas de transmission autosomique récessive. Par la suite, ces mutations de Novo auront une transmission autosomique dominante. (110)

Le déficit en ankyrine est retrouvé chez environ 35 à 65 % des patients. Il peut s'agir de formes dominantes ou de formes autosomiques récessives. (121)(122) Dans les cas de formes

autosomiques dominantes, il s'agit surtout de mutations non sens ou de cadre de lecture donnant un ARN messenger instable ou des protéines tronquées.

Dans les formes autosomiques récessives, il s'agit le plus souvent de mutations faux sens ou de la région promoteur (Bocholt, Walsrock).

Dans les sphérocytoses héréditaires liées à un déficit en ankyrine, il n'y a pas d'autres anomalies morphologiques associées à la présence de sphérocytes. Les formes dominantes sont moins sévères que les formes récessives. La variabilité de l'expression clinique chez les patients présentant une inactivation d'un des deux allèles du gène Ank 1 s'explique par une compensation variable par l'allèle normale du gène Ank 1.

Mutations du gène de l'ankyrine responsables de sphérocytose héréditaire (<http://www.kidscancer.net/membrane/>)

Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Unnamed	---	-204C>G	promoteur	
Unnamed	---	-153G>A	promoteur	
Unnamed	---	-108T>C	promoteur	
Bugey	146	437delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Osterholz	174	520-539del20	cadre de lecture	20-nt délétion

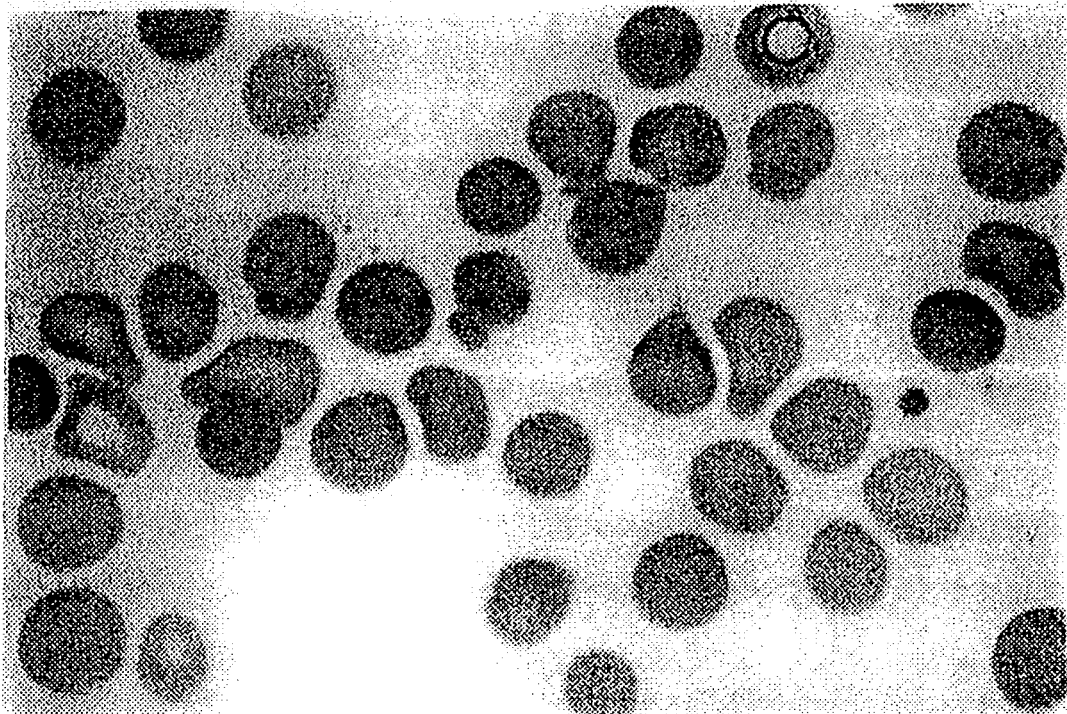
Stuttgart	329	985-986delGC	cadre de lecture	2-nt délétion
Bari	428	1282delG	cadre de lecture	1-nt délétion
Walsrode	463	V463I	faux sens	
Florianoopolis	507	1519-1520insC	cadre de lecture	1-nt insertion
Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Laguna	535	1605delA	cadre de lecture	1-nt insertion
Napoli I	573	1718delT	cadre de lecture	1-nt délétion
Einbeck	573	1717-1718insC	cadre de lecture	1-nt insertion
Munster	596	1788delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Duisberg	601	1801-18C>A	cadre de lecture	Epissage
Votice	631	Q631X	non sens	
Olomouc	765	S765X	non sens	
Marburg	797	2389- 2392del4	cadre de lecture	4-nt délétion
Tabor	907	2720delG	cadre de lecture	1-nt délétion
Napoli II	933	2799delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Zoulova	941	2825- 2826ins5	cadre de lecture	5-nt insertion
Anzio	983	2948delCA	cadre de lecture	2-nt délétion
Nara	1046	L1046P	faux sens	
Melnik	1053	R1053X	non sens	

Tubarao	1075	I1075T	faux sens	
Porta Westfalica	1127	3380delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Unnamed	1185	W1185R	faux sens	
Dresden	1229	S1229R	faux sens	
Unnamed	1262	3785- 3791del7	cadre de lecture	7-nt délétion
Kralupy	1382	4145delT	cadre de lecture	1-nt délétion
Bovenden	1436	R1436X	non sens	
Karlovy	1488	R1488X	non sens	
Prague	1512	4537- 4538ins201	67-aa insertion	
Dusseldorf	1592	D1592N	faux sens	
Rakovnik	1669	E1669X	non sens	
Unnamed	1700	5097-34C>T	cadre de lecture	Epissage
Saint-Etienne 1	1721	W1721X	non sens	
Saint-Etienne 2	1833	R1833X	non sens	
Bocholt	1894	5619+16C>T	faux sens	Epissage

3. Déficit en protéine bande 3

Il existe un déficit en protéine bande 3 chez 10 à 20 % des Nords Américains et des Européens présentant une sphérocytose héréditaire. Ce déficit est plus fréquemment rencontré dans les populations japonaises. (107)(123) Habituellement, il s'agit d'une forme bénigne de la sphérocytose héréditaire avec présence d'érythrocytes en forme de champignons (0,2 à 2,3 % des érythrocytes non retrouvés chez les autres formes).

Photographie d'un frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa, d'un patient SH par déficit en bande 3 (aspect en champignon des hématies)



Il s'agit d'une forme autosomique dominante.

Le plus souvent, le déficit en bande 3 (20 à 40 % de moins que la normale) est associé à un déficit 4,2.

Soit, il s'agit d'une mutation hétérozygote du gène EPB3 avec déficit en protéine bande 3 de 20 à 40 % et un déficit secondaire en protéine 4,2 proportionnel au déficit en protéine bande 3.

Soit, la protéine 4,2 est déficitaire du fait d'une mutation de la protéine bande 3 au niveau du domaine cytoplasmique où se trouve le site de fixation de la protéine 4,2 (bande 3 Tuscaloosa, Montfiore, Fukuoka). (124)

Plusieurs mutations codon-stop ont été identifiées au niveau du gène AE1 :

- mutation non sens avec instabilité de l'ARN messager et un déficit en protéine bande 3 (bande 3 Hodouine, Lyon, Noirterre, Osnabrück I, Trutnov)
- mutation du cadre de lecture (bande 3 Bicêtre II, Bahain, Brüggem, Fagia, Smichov, Evry, Habart, Napoli I, Princeton, Worcester)
- mutation avec défaut d'épissage (bande 3 Campinas, Pribam).

Il existe également des mutations faux sens localisées pour la plupart au niveau du domaine transmembranaire avec diminution de l'incorporation de la protéine bande 3 dans la couche bilipidique (bande 3 Bicêtre I, Dresden, Hradec Kralove, Jablonec, Prague II et III, Milano, Osnabrück II).

Certaines mutations faux sens se situent au niveau du domaine cytoplasmique N terminal avec atteinte de la fixation de la protéine bande 3 avec les autres protéines du squelette membranaire (bande 3 Nachod, Fukuoka, Montefiore, Tuscaloosa). (125)

Dans les cas de la mutation bande 3 Nachod, il y a altération de la liaison de l'ankyrine avec la bande 3 Fukuoka, il y a altération de la liaison avec la protéine 4,2 qui est cependant présente alors que celle-ci est absente chez les patients doubles hétérozygotes pour la protéine bande 3 Fukuoka et la bande Okinowa. Il existe également un déficit en protéine 4,2 chez les patients avec bande 3 Tuscaloosa et Montefiore. (124)(125)

Une mutation au niveau du domaine cytoplasmique C terminal a été identifiée (bande 3 Vesuvio). (127)

Les manifestations cliniques d'une sphérocytose héréditaire liée à un déficit en protéine bande 3 s'expriment de façon homogène au sein d'une même famille, certains patients sont plus malades que d'autres et ceci semble lié à un déficit plus prononcé en protéine bande 3.

On pense que certains allèles mutés du gène EPB 3 non exprimés à l'état hétérozygote, s'expriment quand il existe en trans avec un autre allèle muté du gène EPB 3 (responsable du déficit en protéine bande 3).

Les symptômes de la sphérocytose héréditaire, n'apparaissent que quand le taux de protéine bande 3 est inférieur à un certain seuil.

Ainsi plusieurs allèles bande 3 mutés chez un même patient peuvent

moduler la sévérité de la maladie. Par exemple, les bandes 3 Montefiore et Mondego (toutes deux mutations faux sens au niveau du domaine cytoplasmique) aggravent des manifestations cliniques liées à la protéine bande 3 Coimbra quand elles sont associées. (128)(129)

De même, la sévérité de la sphérocytose héréditaire liée à la bande 3, est augmentée par une mutation bande 3 Genas. (128)(129) Enfin, la mutation Coimbra de la protéine bande 3 a été découverte à l'état homozygote chez un nouveau-né avec une forme sévère de sphérocytose héréditaire. Il existait chez cet enfant, une absence totale de protéine bande 3 et protéine 4,2. La protéine bande 3 était également absente au niveau des cellules intercanalaires du tubule rénal distal avec pour conséquence un hydropsfoetalis associé à une acidose tubulaire distale et une néphrocalcinose. (130)

La protéine bande 3 est un échangeur d'anions et se trouve également au niveau des tubes collecteurs rénaux. Un cas d'acidose tubulaire distale incomplète a été retrouvé avec une mutation protéine bande 3 Pribam. Mais la plupart des sphérocytoses héréditaires avec déficit en protéine bande 3 ne présentent pas d'acidose métabolique. (131)(132)

Des cas de mutations de la protéine bande 3 ont été découverts chez des patients avec acidose tubulaire distale dominante sans anomalie érythrocytaire. Il s'agit de mutations différentes de celles retrouvées dans la sphérocytose héréditaire. (131)(133)

Mutations du gène de la protéine bande 3 responsables de sphérocytose héréditaire (<http://www.kidscancer.net/membrane/>)

Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Genas		-203G>A	promoteur	
Neapolis	---	16+2T>C	initiation abolie	épissage
Montefiore	40	E40K	faux sens	
Foggia	55	163delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Kagoshima	56	167delA	cadre de lecture	1-nt délétion
Hodouin	81	W81X	non sens	
Bohain	81	241delT	cadre de lecture	1-nt délétion
Napoli I	100	298-299insT	cadre de lecture	1-nt insertion
Nachod	117	350-3C>A	5-aa deletion	épissage
Fukuoka	130	G130R	faux sens	
Mondego	147	P147S	faux sens	
Osnabruck I	150	R150X	non sens	
Lyon	150	R150X	non sens	
Wilson	172	515delG	cadre de lecture	1-nt délétion
Worcester	173	515-516insG	cadre de lecture	1-nt insertion
Campinas	204	694+1G>T	cadre de lecture	épissage
Princeton	275	823-824insC	cadre de lecture	1-nt insertion

Boston	285	A285D	faux sens	
Tuscaloosa	327	P327R	faux sens	
Noirterre	330	Q330X	non sens	
Bruggen	419	1255delC	cadre de lecture	1-nt délétion
Benesov	455	G455E	faux sens	
Bicetre II	456	1366delG	cadre de lecture	1-nt délétion
Pribram	478	1431+1G>A	cadre de lecture	épissage
Coimbra	484	V488M	faux sens	
Bicetre I	490	R490C	faux sens	
Evry	496	1486delT	cadre de lecture	1-nt délétion
Milano	500	1498- 1499ins69	23-aa insertion	duplication
Dresden	518	R518C	faux sens	
Smichov	616	1848delC	cadre de lecture	1-nb délétion
Trutnov	628	Y628X	non sens	
Hobart	647	1940delG	cadre de lecture	1-nt délétion
Osnabruck II	664	M664del	1-aa délétion	
Most	707	L707P	faux sens	
Okinawa	714	G714R	faux sens	
Prague II	760	R760Q	faux sens	
Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme

Kumamoto	760	R760Q	faux sens	
Hradec Kralove	760	R760W	faux sens	
Chur	771	G771D	faux sens	
Napoli II	783	I783N	faux sens	
Jablonec	808	R808C	faux sens	
Nara	808	R808H	faux sens	
Prague	822	2464- 2465ins10	cadre de lecture	10-nt insertion
Birmingham	834	H834P	faux sens	
Philadelphia	837	T837M	faux sens	
Tokyo	837	T837A	faux sens	
HT	868	P868L	faux sens	
Prague III	870	R870W	faux sens	
Vesuvio	894	2682delC	cadre de lecture	1-nt délétion

4. Déficit en protéine 4,2 ou pallidine

Les déficits partiels en protéine 4,2 sont le plus souvent rencontrés dans les cas de sphérocytose héréditaire avec déficit en ankyrine ou en protéine bande 3. Le déficit est alors secondaire. (103)(134)(135)
Il existe des cas de déficits isolés en protéine 4,2 au niveau de la membrane érythrocytaire. (136)(137) La transmission se fait alors selon un mode autosomique récessif et les manifestations cliniques

seront peu sévères (la résistance osmotique étant proche de la normale).

Sur les frottis sanguins, la morphologie des érythrocytes est caractérisée par la présence de sphérocytes, d'elliptocytes, et de sphéro-ovalocytes. (76) Actuellement, sept mutations du gène ELB 4,2 ont été identifiées.

La protéine 4,2 Nippon, fréquemment retrouvée au Japon, a une expression bénigne chez les sujets homozygotes ou hétérozygotes complexes. Seules 2 mutations de la protéine 4,2 en dehors de la population japonaise ont été rapportées :

- protéine 4,2 Tozeur (138)
- protéine 4,2 Lisboa d'origine découverte à l'état homozygote. (139)

Mutations du gène de la protéine 4.2 responsables de sphérocytose héréditaire (<http://www.kidscancer.net/membrane/>)

Nom commun	codon	Nom systémique	Type de mutation	Mécanisme
Lisbao	89	265delG	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	épissage
Tozeur	310	R310Q	faux sens	
Shiga	317	R317C	faux sens	

K. TRAITEMENT DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE

L'attitude thérapeutique face à la sphérocytose héréditaire a peu évolué au cours des dernières décennies. Elle consiste en transfusion, splénectomie avec ou sans cholécystectomie auxquelles on peut rajouter la correction des carences vitaminiques (folates), de l'ictère nucléaire (photothérapie et exsanguinotransfusion) ou abstention thérapeutique quand le malade est asymptomatique.

1. La transfusion sanguine

Elle est réservée aux situations hémodynamiques graves, aux anémies mal tolérées ou au traitement de l'ictère néonatal.

Elle peut être salvatrice dans les crises érythroblastopéniques et dans les crises hémolytiques sévères. Elle permet par des transfusions itératives chez l'enfant et le nourrisson, d'attendre que la splénectomie puisse être effectuée.

On utilise du sang frais ou des cryopréservés. Cependant, elles ne sont pas sans risque :

- risque d'une immunisation érythrocytaire ; on établit un phénotype complet initial et on utilise des concentrés globulaires à comptabilité parfaite. On pratique la recherche des anticorps irréguliers avant chaque transfusion. Cette immunisation érythrocytaire se manifeste par une hémolyse intravasculaire et intratissulaire

- risque d'alloimmunisation contre les antigènes leucoplaquettaires (transfusion de sang total non déleucocyté, non déplaquetté 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

- risque de transmission de maladies infectieuses

- complications induites par des transfusions itératives : hémochromatose post-transfusionnelle qui est une complication tardive (et ceci puisque 1 l de sang apporte 500 mg de fer et que l'excrétion quotidienne n'excède pas 100 g par jour).

De plus, au fer transfusé s'ajoute le fer libéré par les globules rouges 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 : DESFERAL administré en sous-cutané, en intra-veineux ou en intra-musculaire, à la posologie de 40 mg/kg/jour. 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/l.

2. Splénectomie totale

Préconisée dès 1903 par BANTI, elle est efficace sur l'hémolyse mais ne corrige pas l'anomalie membranaire. De technique simple, elle n'est pas systématiquement pratiquée. Les indications doivent être discutées en raison de la survenue à court et à moyen terme de complications pouvant engager le pronostic vital. Les indications justifiant la splénectomie sont :

- les répétitions des crises d'hémolyse avec transfusions répétées.
- le retentissement sur la croissance et l'état général.
- la fatigue et le retard pubertaire.
- les antécédents de crise aplasique.
- l'existence d'une lithiase biliaire associée.

Compte tenu du risque infectieux de la splénectomie chez le jeune enfant, elle doit être réalisée le plus tard possible et pas avant l'âge de 3 ans (la rate semblant jouer un rôle clé dans l'acquisition d'une immunité efficace chez l'enfant). Elle est donc contre-indiquée dans les formes néonatales.

L'âge idéal se situe entre 6 et 10 ans, âge auquel les complications tardives de la sphérocytose héréditaire ne sont pas encore apparues et où les complications propres à la splénectomie sont moins sévères.

(12) Depuis 1980, la splénectomie retrouve une place plus importante pour éviter les transfusions et diminuer ainsi le risque de

transmission des infections virales (HIV, Hépatite B et C). Il existe deux techniques actuellement :

- la laparotomie par voie médiane avec recherche de rate accessoire et exploration des voies biliaires
- la coelioscopie ou laparoscopie. La laparoscopie présente un avantage esthétique et permet de diminuer la durée d'hospitalisation et les douleurs post-opératoires. (140)(141)(142)

Le taux de conversion de coelioscopie en laparotomie varie de 0 à 21 % selon les études. La splénectomie par laparoscopie doit être réalisée quand la rate pèse moins de 700 à 800 g, quand il est possible de l'extraire à l'aide d'un sac après fragmentation digitale par l'orifice ombilical ou quand il existe une contre-indication à la cholécystectomie associée. Dans les autres cas, la laparotomie doit être préférée. (143)

La lithiase biliaire est présente chez 30 % de patients atteints de sphérocytose héréditaire (plus rare chez l'enfant de moins de 10 ans). La recherche est systématique par cholangiographie pré-opératoire ou par échographie.

La présence d'une lithiase vésiculaire justifie la réalisation d'une splénectomie par laparotomie associée à une cholécystectomie.

3. Complications de la splénectomie totale

a) Complications post-opératoires

Elles sont rares. La splénectomie réalisée par laparotomie ou par laparoscopie ne fait pas varier le taux de mortalité, ni de morbidité.

b) Complications infectieuses (144)

Le risque d'accident infectieux est plus important chez l'enfant de moins de 5 ans et majeur chez l'enfant de moins de 3 ans compte tenu de l'immaturité du système immunitaire. Il est très présent également chez l'adulte.

Le risque est maximum au cours des deux années qui suivent l'intervention mais persiste tout au long de la vie.

La fréquence des complications infectieuses graves est de 3 à 5 % et la fréquence des infections mortelles est de 2 % avec un risque 4 fois plus important chez les enfants de moins de 5 ans.

Elles sont principalement liées à des méningites ou à des purpura fulminans à *Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae* et *Neisseria Meningitidis*. La mortalité varie entre 50 et 70 % des cas, dont la moitié au cours des vingt-quatre premières heures même avec des traitements précoces adaptés. Le risque infectieux post-

splénectomie nécessite donc une prise en charge vaccinale et une antibioprofylaxie.

On réalise une vaccination anti-pneumococcique, anti-haemophilus influenzae et anti-méningococcique deux semaines avant l'intervention. Les deux dernières sont recommandées si la splénectomie se fait avant l'âge de 6 ans. Les rappels de la vaccination anti-pneumococcique doivent se faire dans un intervalle de 3 ans puis revaccinés tous les 3 à 5 ans chez les enfants de moins de 10 ans au moment du rappel, tous les 6 ans chez l'adulte.

Après le geste chirurgical, on préconise une antibiothérapie prophylactique quotidienne par pénicilline pendant les 5 années qui suivent les splénectomies voire jusqu'à l'âge de 18 ans du fait de la faible incidence du sepsis post-splénectomie chez l'adulte (l'apparition de résistances des pneumocoques à la pénicilline pose d'énormes problèmes actuellement). L'éradication des foyers dentaires avant la chirurgie est obligatoire.

c) Accident thromboembolique et hyperplaquettose

La splénectomie est suivie d'une augmentation de l'hémoglobine, des plaquettes et du cholestérol, et cela dès la première semaine après l'intervention, elle diminue et se stabilise vers le 6^{ème} mois, mais le taux de plaquettes sera toujours supérieur à celui existant avant la splénectomie. Chez les enfants, l'abstention thérapeutique est la

règle, mais chez l'adulte, on propose un traitement préventif des thromboses par anti-agrégants plaquettaires. (145)

4. Alternatives à la splénectomie totale

a) Embolisation partielle de l'artère splénique

Dans la même optique, on peut réaliser une ligature de l'artère splénique, elle consiste (sous anesthésie locale) en une embolisation des 2 branches inférieures de l'artère splénique (vascularisation des 2 tiers inférieurs de la rate) avec de l'alcool à 90°, ce qui permet une thrombose vasculaire lente et progressive sous contrôle angiographique. Parfois, l'embolisation peut être excessive et nécessite une splénectomie dans un second temps.

Elle permet d'éviter les risques de sepsis post-splénectomie puisque la persistance de 30 % des tissus spléniques suffit à assurer une protection efficace grâce aux fonctions immunitaires de la rate. Cependant, il existe un syndrome post-embolisation avec une fièvre modérée, des douleurs abdominales et des vomissements.

Ainsi, on observe une diminution de la sequestration splénique et de l'hémolyse avec une stabilisation de la maladie et un arrêt des besoins transfusionnels. L'hyperplaquettose est transitoire.

b) Splénectomie partielle (146)

Le patient retrouve un taux d'hémoglobine normal sans variation de la durée de vie des globules rouges. Il y a une diminution de l'hémolyse mais moins efficace que la splénectomie totale dans l'expression de la maladie et dans la prévention des lithiases biliaires. (146)

Elle préserve le rôle de phagocytose des macrophages spléniques. Cette technique permet une baisse des risques transfusionnels et une baisse des risques infectieux. Elle doit être préférée chez l'enfant de moins de 5 ans (on peut toujours compléter le geste chirurgical plus tard), et dans les formes bénignes, la vaccination et l'antibioprophylaxie restent nécessaires.

c) Traitement par érythropoïétine

L'injection d'érythropoïétine provoque une augmentation brutale de la réticulocytose et évite les transfusions. Ces injections se font trois fois par semaine. Des études sur cette technique sont en cours dans le service du Professeur G. TCHERNIA.

V. PARVOVIRUS B 19

A. EPIDEMIOLOGIE

Le Parvovirus B19 est un virus ubiquitaire. La transmission se fait par voie respiratoire. Le virus est présent tout au long de l'année, mais les infections à Parvovirus B19 évoluent par épidémies survenant en fin d'hiver et au début du printemps. (147)

La séroprévalence du virus augmente avec l'âge (147)(148) :

- 10 % entre 1 et 5 ans.
- 40 % entre 20 et 30 ans.

Le pic de primo-infection se situe entre 6 et 10 ans, mais elle est fréquente aussi chez la femme de 20 à 30 ans (contact avec les jeunes enfants). (149)

Au cours d'une épidémie, les risques d'infection chez les sujets contact vont de 40 à 50 %. (147) Il existe également un risque de transmission par voie sanguine (sang total, facteur VIII, facteur IX). (150) On note deux cas de transmission par dons d'organes (reins et moelle osseuse). Un cas de donneur sur 40000 a une virémie positive. (147)

La fréquence de séropositivité chez les enfants hémophiles est sensiblement plus haute que la normale. (149)

B. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

1. Manifestations cutanées

Le mégalérythème épidémique est la traduction classique de la primo-infection à Parvovirus B19. On l'appelle aussi cinquième maladie éruptive de l'enfant. (151)(152)(153) Le mégalérythème épidermique est la plus bénigne des maladies éruptives de l'enfant. La première observation a été faite par Robert WILLAN en 1784 et a été redécouverte par CHEIMISSE en 1905. (152) Son étiologie virale a été longtemps soupçonnée.

Il se traduit par un rash maculo-papuleux au niveau du visage (aspect en « joues souffletées ») puis s'étend au niveau du tronc et aux extrémités.

Ce rash apparaît 18 jours après le contagé et disparaît après 5 à 9 jours.

Il est le plus souvent associé à une fébricule et à une rhinopharyngite ainsi qu'à un prurit.

D'autres manifestations cutanées ont été observées :

- Eruption vésiculo-pustuleuse.

- Syndrome de Gianotti Crosti (acrodermite papuleuse infantile décrite comme une éruption micro-papuleuse survenant aux extrémités et aux fesses, éventuellement à la face, épargnant cependant le tronc qui en général est rapportée à une hépatite B mais de nombreuses autres infections virales ont été mises en cause).

- Eruption papulaire purpurique en « gants et chaussettes ».
(147)(154).

L'énanthème est absent mais l'érythème peut toucher les paumes des mains et les plantes des pieds.

Le lien entre la cinquième maladie et le Parvovirus B19 a été découvert en 1977 et en 1982 sur une étude rétrospective au Japon.

(155)



Adéquation syndrome épidémique. Aspect maflanté du visage.

2. Manifestations articulaires

L'atteinte articulaire est présente dans 70 % des cas d'infections à Parvovirus B19 chez l'adulte et seulement dans 10 % des cas chez l'enfant. La fréquence est particulièrement élevée chez la femme. (147)

Il s'agit de polyarthrites peu sévères, bilatérales, symétriques et d'installation brutale. (147)(153)

Les polyarthrites touchent préférentiellement les articulations des extrémités : mains, poignets, chevilles et pieds, puis s'étendent

rapidement aux grosses articulations des membres : genoux et coudes. L'atteinte de la colonne cervicale et lombo-sacrée est possible. (153)

L'atteinte articulaire s'améliore en deux à trois semaines, mais dans 10 % des cas, cette atteinte peut persister plusieurs semaines, voire plusieurs mois avec des rechutes possibles. (147)

Il n'y a ni destruction articulaire, ni séquelle notable.

Un rash érythémateux ou vésiculo-pustuleux voire un épisode pseudo-grippal précède souvent dans les deux mois la symptomatologie articulaire. Le plus souvent, les manifestations articulaires sont le seul signe clinique.

La responsabilité du Parvovirus B19 dans la survenue de polyarthrite rhumatoïde a été évoquée en 1998 par Takahoshi (156) et en 1999 par Altschuler. (157) Cette hypothèse est maintenant abandonnée pour la polyarthrite rhumatoïde et également pour la maladie Still. (158)

Des cas de dermatomyosite (159)(160) et de lupus érythémateux disséminé (161) ont aussi été rapportés, mais bien que le génome viral ait été détecté dans des biopsies cutanées, il n'a pas été retrouvé dans le sérum. (147)

3. Les vascularites

Le Parvovirus B19 est également associé à la survenue d'un purpura rhumatoïde mais dans ce cas, sa prévalence est faible. (162)

Le lien entre Parvovirus B19 et granulomatose de Wegener (163) ou vascularites des gros et moyens vaisseaux est difficile à établir voire controversé.

L'association Parvovirus B19 et maladie de Kawasaki a été réfutée en 1994 par Yoto (164) et en 2000 par Shua. (165)

Une PCR à Parvovirus B19 a été retrouvée positive dans des biopsies d'artère temporale chez des patients présentant une maladie de Horton. (166)

Un lien entre infection à Parvovirus B19 et une maladie occlusive artérielle des extrémités et un phénomène de Raynaud vient d'être récemment trouvé. (167)(168)

Le tronc commun permettant d'expliquer l'association intermittente d'une infection à Parvovirus B19 et de ces pathologies artérielles reste à élucider.

4. Manifestations hématologiques

a) Rappel sur l'érythropoïèse

L'érythropoïèse correspond à la production des éléments figurés du sang :

- globules rouges,
- cellules granuleuses,
- lymphocytes,
- plaquettes.

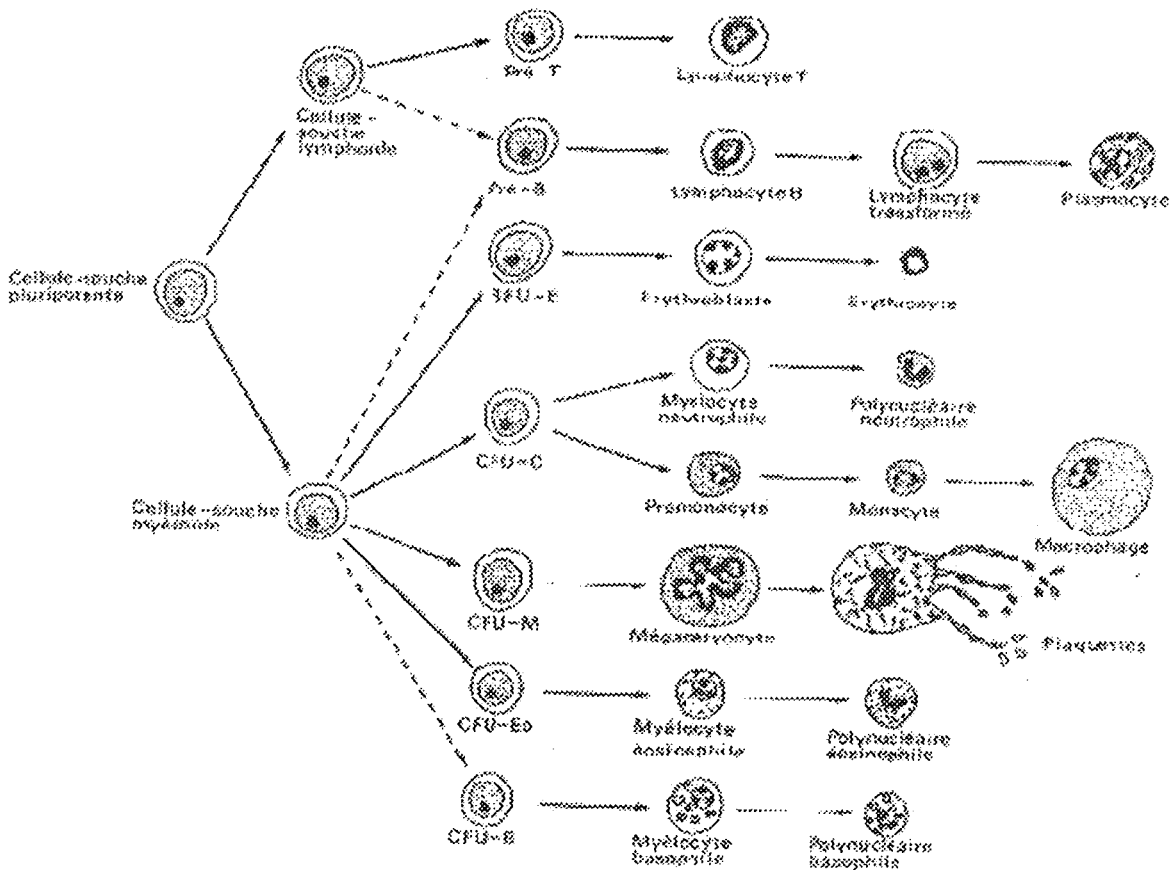
Ces éléments figurés sont élaborés dans la moëlle osseuse à partir d'une cellule souche commune. Les caractéristiques de cette cellule souche sont ses capacités d'auto-renouvellement illimité et ses capacités après un stimulus approprié à donner naissance aux différentes cellules à l'origine des lignées hématopoiétiques. Cette cellule souche est appelée totipotente ou C.F.U. (Colony Forming Unit). Les C.F.U. donnent naissance à des cellules souches uni-potentes différenciées dans une lignée particulière. L'érythropoïèse se développe aux dépens de la cellule souche différenciée dans le sens érythropoïétique. Il existe deux types de cette cellule, en fonction de sa maturation :

- la B.F.U.E. (érythrocytic burst forming unit) qui est la plus indifférenciée.
- la C.F.U.E. (érythrocytic colony forming unit) plus différenciée, proche du proérythroblaste.

Ces cellules souches donnent naissance aux précurseurs de la lignée érythroïde :

- le proérythroblaste.
- l'érythroblaste basophile.
- l'érythroblaste polychromatophile.
- l'érythroblaste orthochromatique.
- le réticulocyte dont le taux reflète l'érythropoïèse.

Parallèlement à cette maturation cytologique, il existe un processus biochimique conduisant à la synthèse de l'hémoglobine.



COMPARTIMENTS DES DIFFÉRENTES CELLULES SOUCHES (140)

b) Notion de cellules cibles

L'équipe de BROWN (National Heart Lung and Blood Institute) a récemment découvert (1994) que le récepteur cellulaire du Parvovirus B19 est l'antigène du groupe sanguin du système P, connu comme l'AgP ou globoside.

Cet antigène est présent non seulement sur les érythrocytes et les érythroblastes mais aussi sur les mégacaryocytes, les cellules endothéliales, le placenta et les cellules cardiaques.

Depuis cette découverte, une étude récente (avril 1994) sur 17 sujets, de phénotype P sans AgP sur leurs érythrocytes a montré

l'absence de trace sérologique d'infection antérieure par parvovirus contrairement à des taux de séropositivité de 71 % et 47 % dans les deux groupes témoins. Elle démontre également que si on inocule in vitro du Parvovirus à dose élevée dans la moëlle des sujets de phénotype P, l'érythropoïèse est normale sans signe d'infection des érythroblastes. Ces résultats suggèrent également que des molécules capables d'empêcher la fixation du Parvovirus B19 à son récepteur pourraient constituer un traitement efficace de l'infection.

(169)(170)(171)(172)(173)(174)(175)

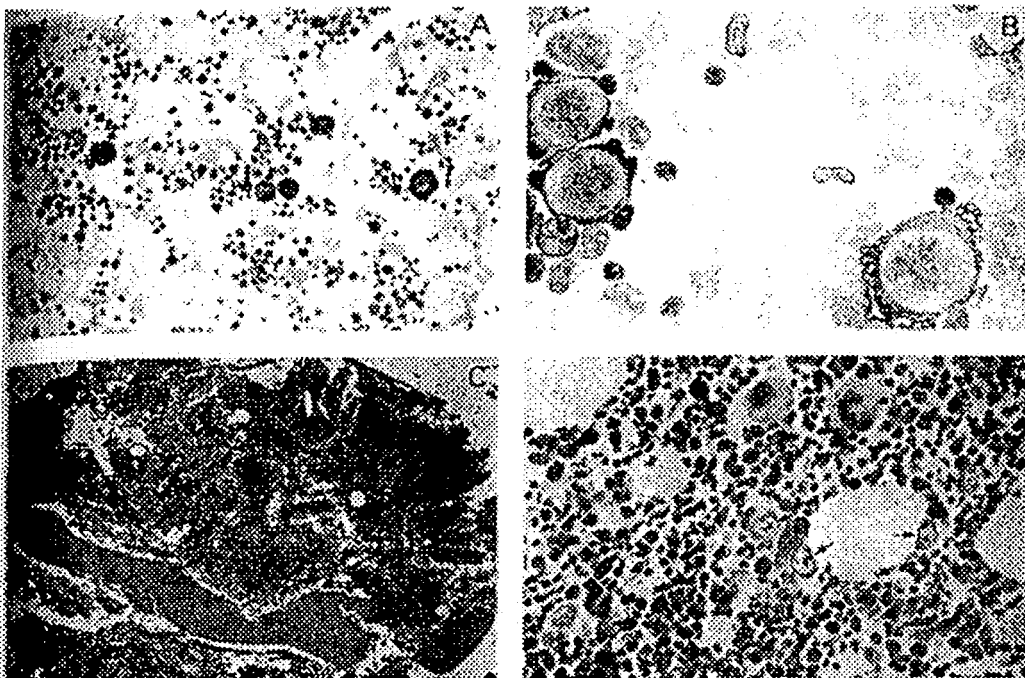
c) Manifestations hématologiques

Chez le sujet sain durant la virémie, on note une diminution des réticulocytes et une perte de 1 à 2 g pour 100 ml de l'hémoglobine.

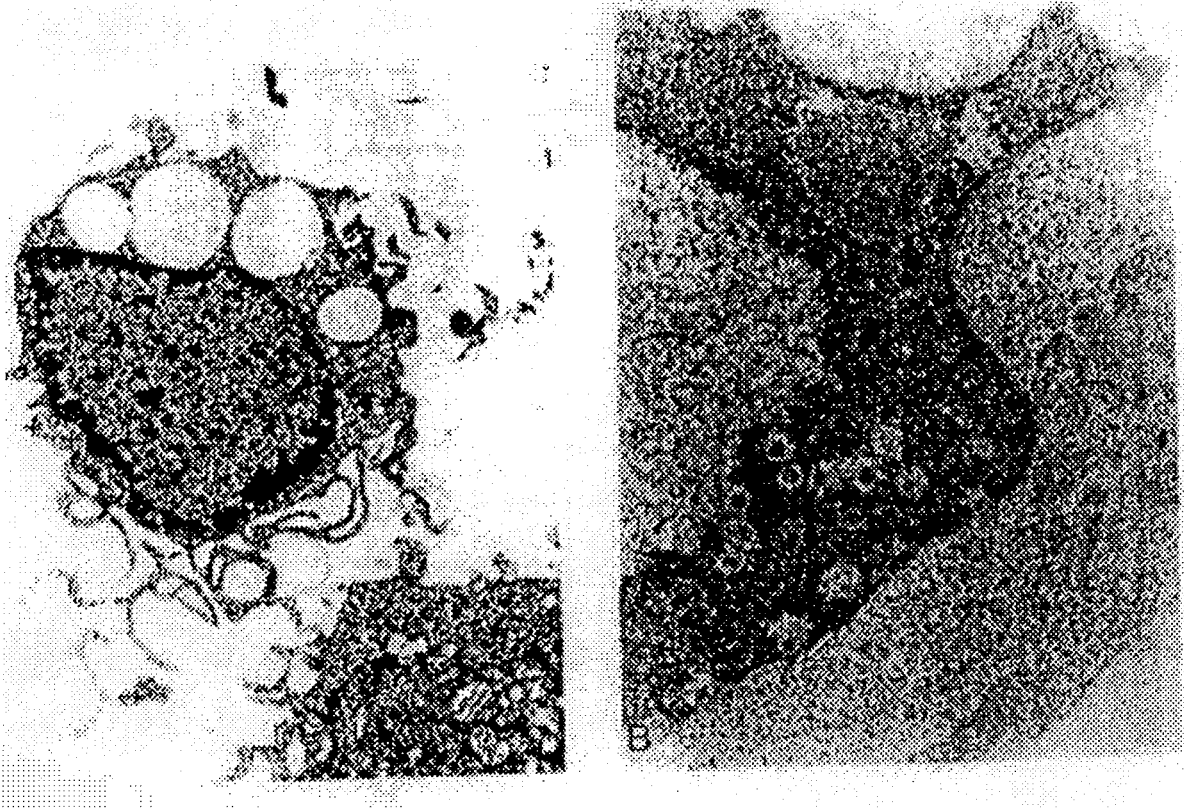
Des prélèvements de moelle osseuse après inoculation du virus, montrent une chute du nombre de précurseur de la lignée rouge type BFU-E et CFU-E.

Par contre, on trouve des proérythroblastes géants anormaux, de diamètre supérieur à 35 mm avec un cytoplaste basophile, une fine chromatine, un nucléole irrégulier ou des inclusions virales au niveau du noyau plus ou moins des vacuoles et des pseudopodes cytoplasmiques.

THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE



Morphologie de la moelle osseuse avec des pronormoblastes géants (avec pseudopodes et vacualisation du cytoplasme et inclusion du nucléole)



Aspect en microscopie électronique d'un précurseur de la lignée érythroïde infecté par le parvovirus B19 in vitro : margination de la chromatine avec présence de particules virales, vacualisation et pseudopodes du cytoplasme

Chez les patients ayant une anémie hémolytique chronique, constitutionnelle ou auto-immune, les taux d'hémoglobine sont toujours initialement bas (7 à 10 g pour 100 ml) et les précurseurs de la lignée rouge ont une durée de vie plus courte (10 à 20 jours). L'interruption de l'érythropoïèse pour 5 jours chez ces individus

conduit à des signes cliniques d'anémie plus marqués avec une baisse du taux d'hémoglobine de plus de 2 g pour 100 ml.

En dehors de l'hémolyse chronique, d'autres pathologies peuvent favoriser l'apparition d'une anémie sévère chez les patients infectés par le Parvovirus B19, comme par exemple, un déficit nutritionnel ou un déficit immunitaire (ex. : HIV - greffes d'organes). Ces pathologies peuvent entraver le processus d'élimination du virus et provoquer des cytopénies subaiguës durables.

La réplication du Parvovirus B19 n'a été obtenue qu'au niveau des cellules souches des lignées érythrocytaires. (172)(173)

Le récepteur cellulaire s'est révélé être l'antigène du groupe sanguin P présent sur les cellules épithéliales, endothéliales, les précurseurs hématopoïétiques du foie fœtal, des cellules myocardiques ainsi qu'au niveau des cellules de la lignée mégacaryocytaire. (174)(175) (151)

Ce récepteur cellulaire est appelé globoside P. Le Parvovirus B19 est donc fréquemment responsable de la crise érythroblastopénique chez l'enfant, le diagnostic différentiel étant l'érythroblastopénie aiguë transitoire de la petite enfance d'origine immunopathologique.

Au cours d'une infection expérimentale par le Parvovirus B19, Anderson et ses collaborateurs (176), ont constaté une leucopénie et une thrombopénie transitoire témoignant d'une atteinte médullaire plus globale.

Le pouvoir pathogène du virus procède de deux effets distincts :

- Effet cytopathique direct du virus sur les cellules : les cellules permissives, au sein desquelles le virus peut se répliquer et donc se développer, sont représentées par les seules cellules souches des lignées érythrocytaires humaines. Après fixation à l'antigène P et son internalisation, la réplication du virus aboutit à une lyse cellulaire, conséquence de l'accumulation de virions plus ou moins complets. (177) Cet effet cytopathique direct est visible en 24 à 48 heures in vitro. (178) La destruction des cellules semi-permissives telles que les mégacaryocytes, découle quant à elle, non plus d'une réplication virale avec accumulation de virions complets, mais d'un certain niveau de transcription virale aboutissant à la synthèse de protéines virales par détournement du métabolisme de la cellule infectée ; protéines virales dont l'accumulation est délétère pour la cellule. (177)

- Effet cytopathique indirect en rapport avec des phénomènes immunologiques : un effet cytopathique indirect, lié à des phénomènes immunologiques induits et entretenus par l'expression d'antigènes viraux (protéine Up1 et Up2) à la surface des cellules parasitées, pourrait également être à l'origine de la destruction des cellules semi-permissives. Cette hypothèse est en outre, la plus couramment admise pour expliquer, par exemple, l'association parvovirus B19 et vascularite. L'atteinte des cellules endothéliales, cellules permettant l'internalisation du virus mais pas sa réplication,

pourrait ainsi, être exclusivement liée à ce mécanisme indirect. (178)
Des cas de thrombopathies auto-immunes (purpura), de neutropathies auto-immunes et d'anémies hémolytiques auto-immunes ont été rapportés. (153)

Comme les patients atteints d'hémolyse chronique, les patients immunodéprimés représentent une population à risque de complications sévères en cas d'infection à Parvovirus.

Ce sont en général des situations d'érythroblastopénies chroniques avec leucopénies et thrombopénies nécessitant des transfusions régulières (ex. : chimiothérapie antileucémique, transplantés d'organes, SIDA, enfants atteints d'un déficit immunitaire congénital et patients sans déficit immunitaire prouvé mais incapables de fabriquer des anticorps de type IgG neutralisants).

Enfin, de rares cas d'aplasie transitoire se sont compliqués de nécrose de la moëlle osseuse. (151)

5. Parvovirus et grossesse (147)(153)

Les Parvovirus animaux sont responsables de mort fœtale in utéro et de malformations congénitales. Le rôle du Parvovirus B19 n'est pas prouvé dans les malformations congénitales chez l'humain.

Le premier cas d'infection materno-fœtale a été rapporté par Brown en 1984. (179)

Environ 45 % des femmes en âge de procréer sont séronégatives et le risque de contamination en cas de contact est de 50 %.

Le risque de mort fœtale lors d'une primo-infection maternelle est estimé à 9 % confirmée par une étude rétrospective américaine. (180)(181) Le taux de transmission trans-placentaire serait de 33 %, la probabilité que le fœtus soit contaminé de 3 à 5 %. (151)(180)

La primo-infection chez la mère n'est pas toujours symptomatique. 10 % présentent des rashes cutanés, 50 % un syndrome grippal banal. Les morts fœtales peuvent survenir dans 14 % des cas après une primo-infection maternelle pendant les vingt premières semaines de gestation. (147)

Le mécanisme en est inexpliqué mais une étude met en évidence au niveau du placenta une réponse inflammatoire constituée de lymphocytes T (CD4 et CD8) avec une nette augmentation de la production d'interleukines. (182)

La pathologie du deuxième trimestre de la grossesse est représentée par l'anasarque foeto-placentaire. (179)(183)

Le taux de mortalité, fonction du degré d'anasarque, peut aller jusqu'à 75 %. (184) Le traitement en est une exsanguino-transfusion intra-utérine.

Chez le fœtus, la durée de vie des globules rouges est courte : 45 à 70 jours. L'érythropoïèse est intense, le foie et la rate sont riches en précurseurs de la lignée rouge, cible de la réplication des Parvovirus. L'anasarque foeto-placentaire est secondaire à une anémie aiguë intrautérine par destruction des lignées érythroïdes et très probablement à une atteinte cardiaque du virus, d'où une anémie

foetale qui se développe et entraîne une augmentation du débit cardiaque, une hypoxie et enfin une anasarque foeto-placentaire avec œdème sous-cutané et ascite. (147)

En fait, l'étiologie de cette anasarque est multifactorielle :

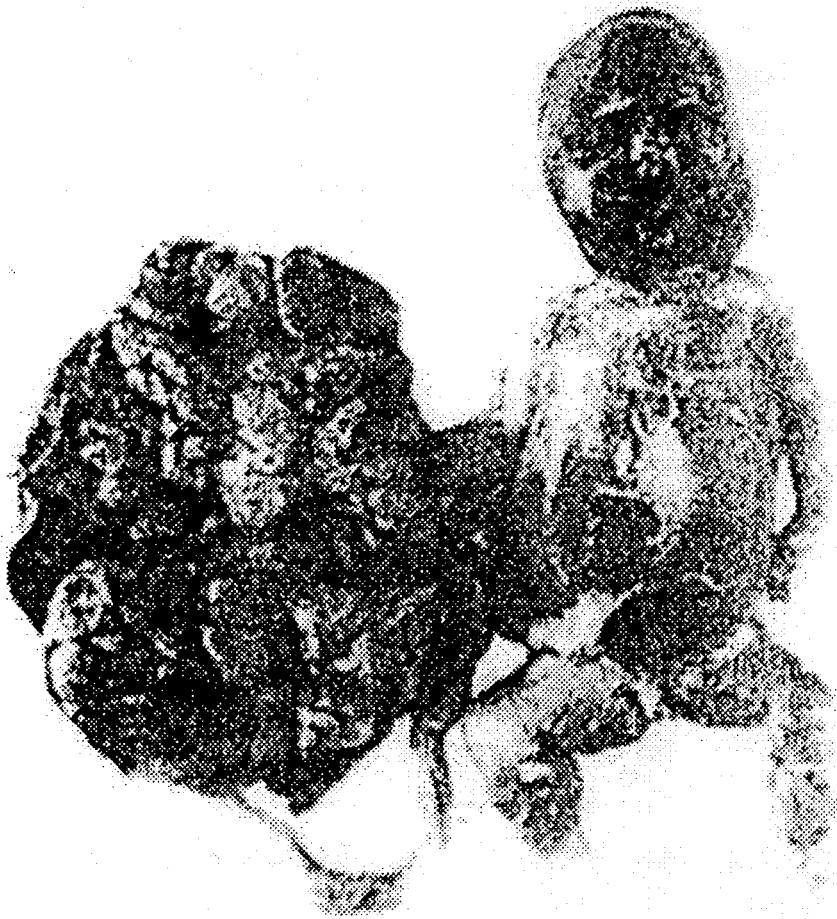
- Hépatomégalie (hématopoïèse extra médullaire qui entraîne une gêne au retour veineux).
- Une myocardite virale (147)(153).
- Une hypoalbuminémie par insuffisance hépatique.

Après traitement par exsanguino-transfusion dont les taux de succès varient entre 60 et 83 %, le pronostic foetal est excellent, de rares cas d'anémie prolongée s'observent à la naissance. (185)(186)

Les immunoglobulines n'ont pas prouvé leur efficacité dans cette situation.

La régression spontanée de l'anasarque pose le problème des indications de la transfusion foetale in utero.

Enfin, jusqu'à ce jour, l'effet tératogène du Parvovirus B19 n'a pas été prouvé.



Anasarque foeto-placentaire après infection intra-utérine à parvovirus B19

6. Atteinte Cardiaque

Dans l'anasarque foeto-placentaire, l'hydrops est associé à une insuffisance cardiaque biventriculaire avec péricardite. Chez l'enfant et l'adulte, il s'agit le plus souvent de la survenue d'une insuffisance cardiaque congestive, brutale, précédée de 2 à 20 jours de fièvre avec ou sans rash évocateur. (147)

L'analyse histologique du cœur par biopsie endomyocardique ou par examen autopsique retrouve un infiltrat lymphocytaire et

inflammatoire du myocarde et du péricarde ainsi qu'une nécrose des myocytes. (147)

On retrouve l'ADN du Parvovirus B19 par PCR ou des antigènes viraux spécifiques par immunohistochimie au niveau du myocarde.

Le traitement consiste en l'association de mesures symptomatiques avec des immunoglobulines et/ou un traitement immunosuppresseur.

L'évolution est fatale dans la moitié des cas. Dans les cas où les patients sont atteints d'une anémie préexistante (ex. : thalassémie majeure), l'anémie sévère peut précipiter l'insuffisance cardiaque.

De plus, la surcharge en fer, due à de multiples transfusions, est un facteur limitant les réserves myocardiques de ces patients. (176)

On remarque qu'un taux élevé de Tumor Necrosis Factor (TNF alpha) est impliqué dans la pathogénie des insuffisances cardiaques sévères de certains patients. (176) Enfin, il faut noter la présence de récepteurs globosides P au niveau des membranes des myocytes expliquant ce tropisme cardiaque.

7. Atteinte neurologique (147)(176)

Ont été observés :

- des encéphalopathies.
- des méningites aseptiques avec pleiocytose et protéinorachie élevée. Le virus a été mis en évidence dans le LCR. L'évolution est spontanément favorable.
- une neuropathie du plexus brachial.
- un syndrome du canal carpien.

8. Atteinte hépatique (147)(176)

Les atteintes hépatiques dues au Parvovirus B19 vont de la simple cytolyse avec ou sans hépatomégalie et hépatalgie à l'hépatite fulminante. Cependant, la responsabilité du Parvovirus B19 n'est pas clairement établie.

9. Manifestation oculaire (176)

La conjonctivite en est une manifestation banale.

Des cas d'uvéite antérieure et d'ophtalmoplégie ont été rapportés chez les adultes en primo-infection.

Des immunoglobulines IgG spécifiques du Parvovirus B19 ont été retrouvées dans le vitré pour 50 % des cas.

10. Autres manifestations cliniques rares (176)

Le Parvovirus B19 serait impliqué dans :

- Certaines fibromyalgies
- Certaines myosites.

C. CARACTERISTIQUES GENERALES

Le Parvovirus B19 ou Parvovirus humain est un petit virus (parvum en latin = petit) à ADN monocaténaire et sans enveloppe appartenant à la famille des Parvoviridae.

La famille des Parvoviridae comprend trois genres (150)(151)(155) :

- dentovirus
- dependovirus
- parvovirus.

1. Les dentovirus

Ils infectent les insectes, sont à réplication autonome c'est-à-dire qu'ils se multiplient sans l'aide d'un autre virus.

On les rencontre chez les diptères ou les arthropodes.

On en connaît six membres. L'espèce type en est le dentovirus of Junia ou Galleria Densovirus.

2. Les dependovirus

Ils se distinguent des autres parvovirus car leur réplication est dépendante d'un virus « Helper » qui peut être un adénovirus ou un herpesvirus.

L'espèce type est l'Adeno Associated Virus (AAV) dont on a isolé chez l'homme cinq sérotypes. Ils sont occasionnellement retrouvés dans les selles humaines mais aucune affection spécifique n'a pu leur être attachée.

Ils ont aussi été isolés chez :

- les oiseaux Avian AAV (AAAV).
- les bovidés Bovine AAV (BAAV).
- les chiens Canine AAV (CAAV).

3. Les parvovirus

Ce sont des virus autonomes qui se multiplient dans le noyau de la cellule hôte.

Ce genre regroupe de nombreux virus.

L'espèce type en est le Parvovirus R1 (ratvirus KILHAM). Le premier parvovirus fut découvert en 1951 chez le vison (Alentian Mink Virus).

La plupart des parvovirus infectent les animaux et sont bien connus en pathologie vétérinaire.

Le virus de la panleucopénie du chat (FPV)

et son variant canin (CPV) sont responsables de la gastroentérite mortelle chez les chiots non vaccinés.

Ils existent également chez le porc, la souris, les oies et les lapins. Le plus récent des parvovirus humains isolés est le RA1 isolé dans le tissu synovial chez un sujet porteur d'arthrite rhumatoïde mais sa pathogénicité n'a pas été démontrée. Enfin, chez l'humain, a été découvert le premier parvovirus à réplication autonome et pathogène officiellement désigné aujourd'hui sous le terme de Parvovirus B19. Ces parvovirus ont un diamètre compris entre 15 et 18 nm.

D. HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU PARVOVIRUS B19

Le Parvovirus B19 a été découvert fortuitement par trois équipes distinctes.

En 1972, une équipe française (COUROUCE et collaborateurs) (187)(188) du CNTS de Paris met en évidence lors du dépistage systématique de l'antigène Hbs chez les donneurs de sang, chez deux sujets, un marqueur antigénique distinct de l'antigène Hbs en électroimmunodiffusion (arrivée des tests plus sensibles RPHA (Reserve Passive Hemagglutination) et le RIA (RadioImmunoAssay). Ce nouvel antigène fut appelé « Aurillac », nom de la ville où le sang fut collecté.

En 1975, en Angleterre, Yvonne COSSART fait une observation identique chez neuf donneurs de sang. (151)(189) La microscopie électronique met en évidence de petites particules de 23 nm différentes de l'antigène Hbs. Le Docteur COSSART leur donne le nom de Serum Parvovirus Like Virus (SPLV).

En 1979, Yamana identifie lui-aussi un antigène appelé antigène « Nakatami » du nom d'un des donneurs chez qui a été observé un faux positif lors du dépistage systématique de l'antigène Hbs en électroimmunodiffusion. (190)(191)

Parvovirus B19 est la terminologie aujourd'hui adoptée. A cette époque, cet antigène n'est associé à aucune pathologie précise puisqu'il est retrouvé chez les sujets sains.

E. MISE EN EVIDENCE DE LA PATHOGENECITE DU PARVOVIRUS B19

Il a fallu plusieurs années pour rattacher au Parvovirus B19 un certain nombre d'états pathologiques. En 1980, Sheerson (192) met en évidence la présence du parvovirus B19 dans le sang de deux jeunes soldats qui présentent un syndrome pseudogrippal avec hyperthermie. Ces deux soldats appartiennent à la même unité de retour d'Afrique où ils avaient été tatoués dix jours auparavant.

Toujours en 1980, l'équipe du Docteur SERGEANT (193) à la Jamaïque puis en 1981 l'équipe du Docteur PATTISON (194), ont

mis en évidence une relation entre des crises érythroblastopéniques chez des malades drépanocytaires et aussi d'autres types d'anémies hémolytiques chroniques et le Parvovirus B19.

Le Docteur Anderson publie des résultats similaires en 1982. (195)

En 1982, Kelleher (196) observe des IgM dans une famille infectée par le parvovirus B19. Les deux enfants, porteurs d'une sphérocytose héréditaire, présentent une érythroblastopénie aiguë avec une anémie sévère nécessitant une transfusion. La mère, non porteuse de sphérocytose héréditaire, présente simplement un fébricule.

A Londres, au printemps 1983, deux épidémies de mégalérythème (cinquième maladie) permettent de faire le lien avec le Parvovirus B19.

En 1984, on note sa responsabilité dans des cas d'avortements, de morts in utero, de foetopathies (hydrocéphalie) ; en 1985 d'atteintes articulaires, en 1987 d'atteintes de la moelle osseuse compliquant d'autres anémies hémolytiques : thalassémie, anémies autoimmunes, déficits enzymatiques (ex. : pyruvate kinase), maladie de Minkowski-Chauffard, syndrome de Nazelof (déficit immunitaire congénital). En raison de son affinité pour les progéniteurs érythrocytaires, il serait aussi responsable d'anémies réfractaires liées à l'infection par le HIV.

Depuis, le Parvovirus serait impliqué dans d'autres pathologies : maladies neurologiques (plexus brachial, méningite), atteintes du système vasculaire, du myocarde, de l'anasarque foeto-placentaire.

Le champ des manifestations cliniques liées au Parvovirus B19 ne cesse de s'élargir d'années en années.

F. CARACTERISTIQUES DU PARVOVIRUS

B19

Il s'agit d'un des plus petits virus à ADN, sa taille est environ de 20 à 25 nm (en comparaison : rétrovirus 200 à 240 nm, virus herpès 150 à 180 nm).

Il n'a pas d'enveloppe lipidique ce qui contribue à sa grande stabilité à l'exposition à la chaleur et donc à sa grande contagiosité. (151) Sa densité est de 1,36 à 1,40.

C'est un virus qui, à la microscopie électronique, apparaît enfermé dans une capsidie icosaédrique (érythrovirus à 12 sommets) à 32 capsomères de 3 à 4 nm de diamètre.

Sa structure moléculaire le rend très résistant à l'inactivation physique et chimique.

Il résiste à une heure d'ébullition, aux solvants lipidiques (éther et chloroforme) et on le retrouve après plusieurs années à température ambiante. (153)

Il peut cependant être inactivé par le formol, la Bêtapropiolactone, les agents oxydants.

Son génome est un ADN monocaténaire qui contient environ 5600 bases et possède des séquences terminales palindromiques se repliant sur elles-mêmes. Il est riche en guanine et cytosine. Le bras est replié à ses extrémités 5' et 3' en épingle à cheveux.

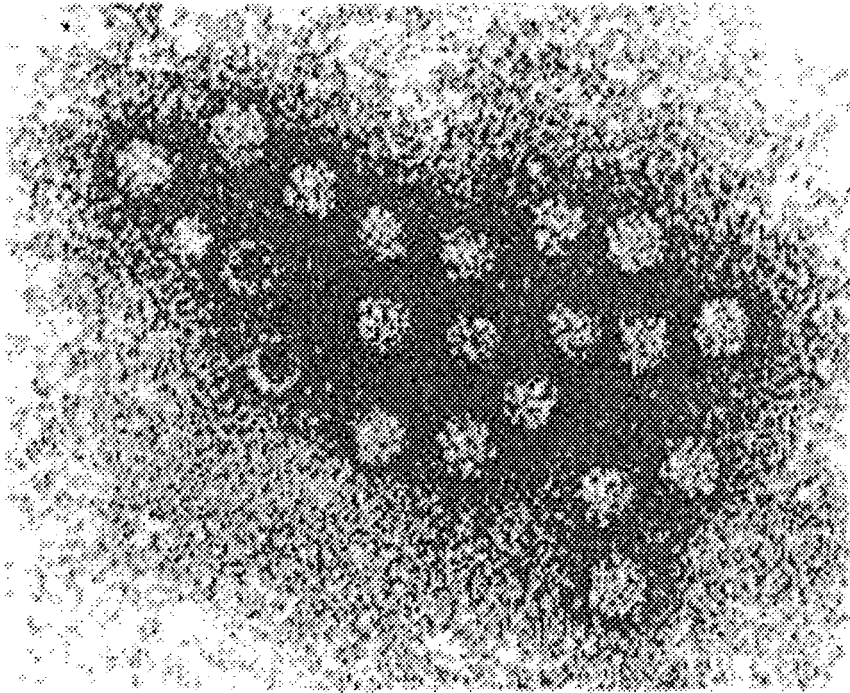
Il possède environ 120 à 150 nucléotides.

Cet ADN code pour :

- Trois Non Structurale Proteines : NS1 NS2 NS3. (147)(151)(153)

NS1 a un poids moléculaire de 77 kDa, a une fonction fondamentale dans le replication (fonction d'endonucléase et d'hélicase), induit la mort cellulaire par apoptose des cellules de la lignée érythroïdes et inhibe la colonisation des mégacaryocytes in vitro.

- Trois protéines de capsides VP1 VP2 VP3 en proportions variables en fonction de la maturation du virion. VP1 est une protéine de la capside mineure 5 %, son PM est de 84 kDa, VP2 est une protéine de la capside majeure 85 %, son PM est de 58 kDa, VP3 provenant de la protéolyse partielle de VP2 est exposée à la surface de la capside, son PM est de 62 kDa. Ces trois protéines sont immunogènes. Les soixante protéines composantes de la capside sont codées sur la moitié droite du génome, les protéines non structurales sur la moitié gauche.



Aspect en microscopie électronique du parvovirus B19 montrant des particules icosaédriques caractéristiques de la famille des Parvoviridae

6. REPLICATION DU GENOME

Le Parvovirus B19 se réplique de façon autonome in vivo. (174)

Après pénétration par voie respiratoire, le Parvovirus B19 va atteindre, au cours d'une virémie primaire non détectable, ses cellules cibles (précurseurs érythroïdes BFU-E et CFU-E).

La replication du Parvovirus B 19 dépend d'une ou plusieurs fonctions de la cellule hôte exprimées tout au début de la phase S du cycle cellulaire.

La réplication se fait essentiellement au niveau des précurseurs tardifs de la lignée rouge chez lesquels il a un effet cytotoxique. La moelle osseuse est très riche en précurseurs tardifs dans les anémies chroniques. (147)

Après internalisation via le globoside P, le génome viral d'ADN monocaténaire est libéré de sa capside et gagne le noyau où il devient bicaténaire. Et ce grâce à son extrémité 3' qui est repliée en épingle à cheveux et sert d'amorce pour recopier la molécule génomique (l'ADN viral se termine à chaque extrémité par une séquence palindromique qui lui donne un aspect en double épingle à cheveux). La zone d'ADN double brin au niveau de l'extrémité 3' sert d'initiation à la synthèse d'un ADN complémentaire.

Donc le seul promoteur fonctionnel in vivo situé à l'extrémité 3' assure la synthèse de trois ARN messagers (151)(174) :

- un ARN messenger non épissé qui traduit en une protéine non structurale de régulation (NS-1 de 77 kDa) qui a une fonction fondamentale dans la replication.

- deux ARN messagers mono et biépissés collant respectivement pour les protéines de capsides VP1 et VP2.

A quantité égale d'ARN messenger, les protéines VP2 sont produites en plus grande abondance que VP1 (d'où les pourcentages respectifs de VP2 96 %, et VP1 4 % au sein de la capside des néovirions : traduction préférentielle).

En effet, au niveau de l'ARN messenger de la protéine VP1, il existe de nombreux codons AUG (en amont du codon AUG, déclencheur de la synthèse de la protéine VP1) qui perturbe l'efficacité du ribosome à se fixer sur le codon AUG déclencheur.

Cette zone n'existe plus sur l'ARN messenger de la protéine VP2 car elle a disparu lors du second épissage.

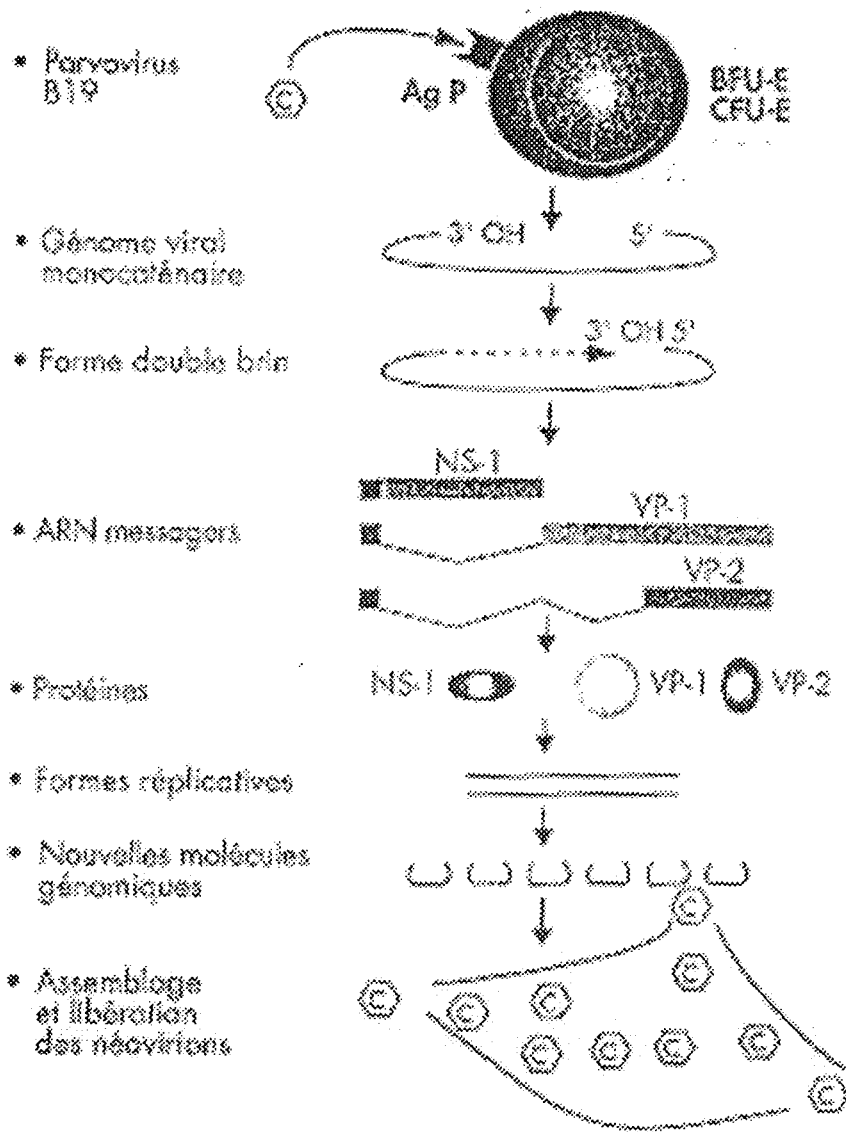
Les protéines de la capside vont servir à emballer les nouvelles molécules génomiques d'ADN monocaténaire de 5600 bases.

A la suite de la lyse cellulaire qui termine le cycle viral de 48 H à 72 H, les nouvelles particules virales sont libérées dans le courant sanguin et constituent la virémie secondaire. On a également pu obtenir une culture à partir de cellules de foie fœtal.

De ces caractéristiques, les deux populations les plus menacées par une infection à Parvovirus B19 sont :

- les sujets dont la durée de vie des globules rouges est altérée et qui ont une régénération constante et intense de leur anémie.
- les fœtus contaminés au cours du deuxième trimestre de grossesse (en effet, l'érythropoïèse hépatique fœtale est maximale à ce moment-là). (197)

L'infection chronique entraîne une immunosuppression qui s'explique par l'absence de production d'anticorps neutralisant de type IgG, ce qui permet au virus d'échapper au contrôle immunitaire.



▲
Infection lytique des précurseurs érythroïdes
par le parvovirus B19.

H. LES DIFFERENTES METHODES DIAGNOSTIQUES

1. Diagnostic direct du virus

- La microscopie optique recherche les inclusions virales à partir de prélèvements de moelle hématopoiétique de l'adulte, du sang du cordon ombilical ou du foie fœtal. De volumineuses inclusions intranucléaires avec margination de la chromatine sont retrouvées dans les précurseurs érythroïdes (pronormoblaste géant). (198) Après coloration au Wright Giemsa ou à l'hématoxyline-éosine, aspect cytologique présent dans les infections récentes ou anciennes.
- La microscopie électronique visualise l'inclusion intranucléaire (accumulation cristalline de particules virales complètes rondes de 18 à 25 nm). Ceci est uniquement un diagnostic de présomption. (198)(199)

2. Recherche de l'antigène viral

L'antigène viral n'est pas toujours retrouvé car la virémie est courte et précède souvent les signes cliniques. Deux méthodes permettent sa mise en évidence :

- l'ElectroImmunoMicroscopie (EIM) .

- l'ElectroImmunoDiffusion (EID).

a) EIM (150)

On centrifuge pendant deux heures à 100 000 g le sérum ou le plasma décanté. Le culot est repris dans une solution salée phosphatée tamponnée (PBS) et lavé par deux cycles de centrifugation.

On additionne au culot du sérum contenant les anticorps antiparvovirus et après contact on centrifuge.

Le culot est alors placé sur une grille, traité par l'acide phosphotungstique à 1,5 % et à pH de 6,5, et observé au microscope électronique.

Mise en évidence d'agrégat de particules virales, nues de 22 nm de diamètre.

b) EID (150)(188)

On place sur un côté d'une plaque de gélose le sérum supposé contenir l'antigène viral ; de l'autre côté de la plaque, on place des anticorps spécifiques antiparvovirus.

On applique un champ électrique.

Au point de rencontre des antigènes et des anticorps, se forme une ligne de précipitation.

La dilution maximale d'antigènes donnant un précipitat permet d'évaluer par référence à des témoins la concentration d'antigènes.

Les résultats sont obtenus en 1 à 2 H.

3. Recherche des anticorps

a) EID (150)(200)

Même méthode que décrite plus haut, mais ce sont les anticorps présents dans le sérum qui sont recherchés.

La dilution maximale d'anticorps donnant un précipité permet d'évaluer par référence à des témoins, la concentration d'anticorps.

Cette technique est peu sensible et il faut 2 prélèvements pour montrer une séroconversion et des titres élevés d'anticorps.

b) Méthode RadioImmunologique RIA (150) ou méthode MACRIA : M. Antibody Capture RadioImmuno Assay (201)

Elle se passe en trois étapes :

- on fixe sur des billes en polystyrène des anticorps antiIgM et on les met en contact avec le sérum à tester (on recherche des IgM antiparvovirus).
- après lavage, on additionne l'antigène des Parvovirus.
- après un nouveau lavage, on additionne des IgG antiparvovirus marqués à l'iode 125. Après un troisième lavage, on dose la radioactivité.

C'est une technique qui permet de déceler la présence d'IgG spécifique au Parvovirus B19 signant une infection récente. Elle est fiable et un seul prélèvement est suffisant.

c) Méthode ImmunoEnzymatique (ELISA) : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (202)

Le principe est identique à la méthode RIA. Elle est basée sur l'immunocapture des IgM ou IgG du sérum à tester par un anticorps antichaîne MU (ou a pour les IgG).

L'antigène B19 est mis en contact avec les IgM ou les IgG. Leur interaction est détectée par l'addition successive d'un anticorps monoclonal antiB19 et d'immunoglobulines antisouris marquées par la peroxydase.

L'activité enzymatique est le plus souvent révélée par une technique colorimétrique.

Ces techniques sont préférentiellement utilisées dans certaines situations :

- Eruption atypique ou arthralgie chez l'enfant ou la femme enceinte.
- 10-15 jours après contagé chez une femme enceinte.
- Bilan d'anasarque foeto-placentaire.
- Bilan d'anémie chronique ou aiguë chez un sujet immunodéprimé.

Remarque : chez le fœtus et les sujets immunodéprimés, il faut impérativement associer à ces méthodes un diagnostic par PCR (car il y a un défaut d'immunoglobulines M).

4. Biologie moléculaire

a) Dot Blot Hybridation ou hybridation utilisant un ADN viral cloné (150)(203)(204)(205)

On isole le virus du plasma par centrifugation. On clone l'ADN par un procédé complexe, l'ADN est alors marqué au phosphore 32 (« Nick Translation »).

La concentration en ADN du parvovirus est estimée par comparaison densitométrique.

A la différence de l'EID et de la RadioImmunologie (RIA), la présence d'anticorps n'interfère pas dans la recherche du virus.

b) Polymerase Chain Reaction (PCR) (150)(206)(207)

La PCR ou réaction d'amplification génétique est très performante pour le diagnostic d'infection à Parvovirus B19.

Le seuil théorique de détection est d'environ 10 copies/ml pour une virémie de 10^8 à 10^{12} particules/ml en phase aiguë de maladie.

L'amplification génique par PCR multiplie par plus d'un million de fois le génome présent dans un échantillon reproduit avec une fidélité absolue.

On peut alors mettre en évidence le génome par hybridation ou on peut l'analyser par séquençage des nucléotides.

La technique est coûteuse et réservée à certaines indications :

- Si l'infection est persistante chez un sujet immunodéprimé avec des réponses sérologiques paradoxales.
- Pour la recherche d'une contamination fœtale quand il y a une primo-infection sérologiquement prouvée chez la mère. La recherche du virus se fait de préférence sur le liquide amniotique parce que les IgM n'apparaissent dans le sang fœtal qu'à la 18^{ème} semaine d'aménorrhée. Une deuxième PCR peut être indiquée si il y a persistance de signes d'appel fœtaux et absence de séroconversion maternelle.

Description de la technique de PCR :

- l'amplification est effectuée sur une portion d'ADN longue de quelques centaines de bases dont la séquence nucléotidique est connue au moins partiellement.
- on utilise deux amorces, des oligonucléotides synthétiques susceptibles de s'appareiller spécifiquement avec chacun des deux brins d'ADN complémentaires aux extrémités de la portion choisie par l'amplification.
- à partir des amorces, une ADN polymérase thermorésistante, Taq polymérase, fabrique une copie de chaque brin d'ADN ce qui multiplie par deux le nombre initial de copies de la portion d'ADN concernée.

- puis, on pratique des cycles thermiques sur les brins (à renouveler 30 fois ; chauffage à 90 ° pour séparer les brins, à 50 ° pour hybrider les amorces, à 70 ° pour la réplication).

Il en résulte que la région encadrée par les nucléotides est considérablement amplifiée. Cette amplification est exponentielle. Pour n cycle, le facteur d'amplification est en théorie de 2^n environ 10^{30} (en fait 10^{20} car le rendement est mauvais).

- la visualisation de la portion d'ADN amplifiée est obtenue par électrophorèse en gel d'agarose et coloration au bromure d'ethidium. On obtient alors une bande d'ADN homogène. On vérifie l'efficacité de l'amplification et sa spécificité en comparant la longueur du fragment obtenu à celle attendue d'après les amorces choisies.

La moindre impureté de nucléotide est amplifiée. La technique nécessite une rigueur méthodologique fondamentale (propreté du matériel et l'isolement de l'acide nucléique).

I. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL

Des expériences sur volontaires sains ont été réalisées (Anderson et collaborateurs en 1985) par instillation de Parvovirus B19 en intranasal. (149)(150)(155)(208)

Après pénétration dans l'organisme, le virus diffuse dans les différents organes à l'occasion d'une virémie intense survenant environ une semaine après contamination (10^{11} particules virales/ml

à l'acmé). Puis quelques jours après, le virus n'est plus détectable dans le sang et les anticorps spécifiques apparaissent : d'abord les anticorps IgM suivis un ou deux jours après par les anticorps IgG.

Pendant la virémie, le taux de réticulocytes chute jusqu'à devenir indétectable et on observe une disparition des cellules érythroïdes de la moelle (10 ème jour suivant l'inoculation). Il y a également une légère diminution de l'Hb, des éléments blancs et des plaquettes.

Pendant la virémie, on note une hyperthermie et des manifestations cliniques non spécifiques.

Trois semaines après l'inoculation, apparaissent un rash et des arthralgies, témoins probables de l'existence d'immunocomplexes survenant lors de la suppression des anticorps spécifiques.

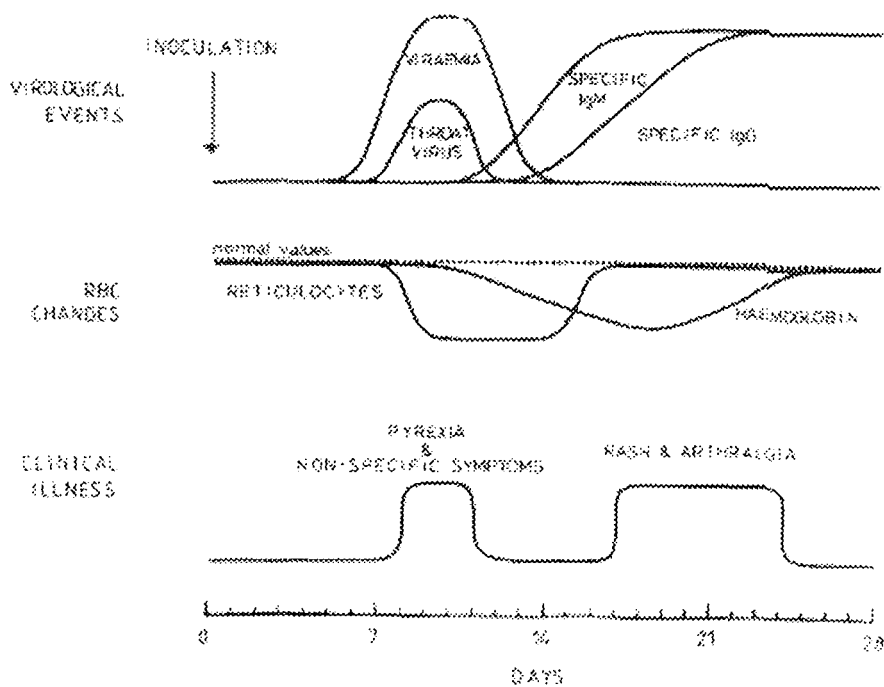


Diagramme représentant la suite des évènements lors d'une infection de volontaire par le parvovirus B19

J. TRAITEMENT DE LA CRISE ERYTHROBLASTOPENIQUE

Le traitement n'est que symptomatique. (209)(210)(211)

L'évolution peut être spontanément favorable, mais le plus souvent elle nécessite la transfusion de plusieurs concentrés globulaires phénotypés qui permettent au sujet de passer un cap (risque vital) jusqu'au « débloqué médullaire » et reprise de la production érythrocytaire.

Chez les sujets à risque : immunodéprimés, HIV, insuffisants rénaux, on préconise l'injection d'immunoglobulines humaines polyvalentes riches en anticorps antiparvovirus de la façon la plus précoce possible. Enfin, le clonage de l'ADN parvoviral laisse espérer la réalisation d'un vaccin.

Chez la femme enceinte où le taux d'atteinte du fœtus par le virus faible et l'absence d'action tératogène, l'ITG (Interruption Thérapeutique de Grossesse) n'est pas préconisée.

VI. DISCUSSION

L'originalité de ce présent travail réside d'une part dans le problème urgent posé par la pathologie aiguë présentée par la petite Cindy, puis par la réflexion « en cascade » qui aboutira au diagnostic, enfin par la révélation d'une pathologie non connue par une autre infection.

L'observation médicale d'entrée de Cindy retrouve des signes généraux non spécifiques, certes, mais pouvant orienter vers une pathologie infectieuse (céphalées, fièvre, douleurs musculaires).

Les antécédents personnels et médicaux sont non contributifs, mais à la lueur de cette observation, nous ne pouvons qu'insister sur la précision d'un interrogatoire rigoureux, voire policier.

En fait, l'inquiétude engendrée par l'état de cet enfant vient des signes cliniques évoquant une anémie aiguë :

- Pâleur cutanéomuqueuse.
- Tachycardie.
- Souffle cardiaque systolique.

Le diagnostic d'anémie aiguë est confirmé par un taux d'hémoglobine effondré (4,9 g/dl), mais surtout, nous pouvons comparer ce taux à celui effectué par le médecin traitant une semaine auparavant qui était de 12,1 g/dl.

Le reste des examens biologiques confirme le diagnostic d'anémie aiguë normochrome, normocytaire, arégénérative.

Le traitement d'urgence réalisé (transfusion de concentrés globulaires), l'orientation diagnostique s'impose :

Le caractère non régénératif de la moëlle oriente vers une aplasie par hypoplasie médullaire ou une dysérythropoïèse. Le médullogramme élimine la première hypothèse, la biologie, elle, élimine l'anémie inflammatoire, l'insuffisance rénale et thyroïdienne.

Les sérologies virales (CMV, HIV, hépatite A, B, C) sont négatives et l'interrogatoire ne retrouve pas de prise médicamenteuse. Nous pouvons donc poser le diagnostic d'érythroblastopénie aiguë sur une anémie hémolytique constitutionnelle liée à une primo-infection par le Parvovirus B19 (agent pathogène de la cinquième maladie chez l'enfant). Cette primo-infection est confirmée par la présence d'IgM à la sérologie et par la positivité de l'amplification génique du virus.

Les examens complémentaires vont nous permettre d'étiqueter l'anémie hémolytique constitutionnelle ; parmi ceux-ci, nous en retiendrons principalement :

- un taux effondré d'haptoglobine plasmatique.

- le test de fragilité osmotique des globules rouges avec une étude de la résistance globulaire osmotique (RGO) : la diminution de cette résistance est présente dans 90 % des maladies de Minkowski-Chauffard.

- l'étude de la durée de vie des globules rouges.

- l'étude de la déformabilité des globules rouges par ektacytométrie.

- l'étude du VMCS (Volume Moyen Corpusculaire Sphérisé) qui est inférieur au VGM (Volume Globulaire Moyen) est un élément important pour affirmer le diagnostic (Professeur Patrick LUTZ).

Le reste des examens complémentaires (biochimiques, moléculaires et génétiques) sont de pratique peu courante, mais permettent d'expliquer de façon précise les anomalies de la membrane du globule rouge dans la sphérocytose héréditaire et ainsi d'affirmer un diagnostic dans des cas cliniques difficiles.

Enfin, les autres causes d'anémies hémolytiques constitutionnelles seront éliminées par des dosages spécifiques (déficits enzymatiques, maladies autoimmunes).

Le Parvovirus B19 est l'agent pathogène viral responsable de la cinquième maladie bénigne chez l'enfant, mais dont la primo-infection peut être redoutable chez des patients porteurs d'anémies chroniques, chez les immunodéprimés, chez des enfants en carences nutritionnelles, et chez la femme enceinte. Les érythroblastes sont porteurs du globoside, récepteur antigénique du Parvovirus B19.

Le blocage médullaire de la lignée érythrocytaire associé, comme dans notre observation, à des érythrocytes dont la membrane présente une anomalie, provoque une déplétion rapide en globules rouges circulants.

Les examens complémentaires sérologiques ou de biologie moléculaire (PCR, amplification génique du virus) prouvent une primo-infection à Parvovirus B19 et sont fiables et spécifiques.

L'intérêt de cette observation clinique réside dans la découverte d'une maladie constitutionnelle au décours d'une infection virale. Elle permet une prise en charge spécifique de cette maladie grâce à une surveillance rapprochée pouvant dépister l'évolution de cette maladie et ses complications, mais permet aussi la recherche d'une atteinte similaire chez d'autres membres de la famille. Il est intéressant de noter que le père de notre patiente ayant fait l'objet de cette observation, présente une maladie de DUBIN JOHNSON évoluant à bas bruit.



VII. RESUME

Anémie hémolytique chronique dûe à une anomalie de la membrane du globule rouge, la sphérocytose héréditaire bénigne est habituellement asymptomatique. Au cours d'une infection par le parvovirus B19, agent pathogène viral responsable de la V ème maladie, les patients porteurs de sphérocytose présentent une anémie aiguë intense nécessitant un traitement d'urgence. L'originalité de ce présent travail fut la découverte d'une sphérocytose héréditaire, inconnue jusqu'alors, au décours d'une infection par le parvovirus B19. Il expose une physiopathologie moléculaire complexe de ces deux maladies et propose un éventail d'examens complémentaires permettant d'aboutir à ce diagnostic difficile, et à la surveillance ultérieure du patient.

MOTS CLES :

- Sphérocytose héréditaire
- Parvovirus B19
- Cinquième maladie infantile.

VIII. BIBLIOGRAPHIE



1. Vanlair C. ; Masius J.R.
De la microcytémie
Bull Acad R Med Belg 1871, 5, 515-611
2. Binet J.L.
Histoire de la sphérocytose congénitale
Nouv rev Fr Hematol 1981, 23, 177-184
3. Dacie J.
The hemolytic anemias Vol 1
The hereditary hemolytic anemias 1985, Part 1, 134-215
Third Edition, Edinburgh : Churchill Livingston
4. Minkowski O.
Über ein hereditäre, unter dem Bilde eines chronischen icterus mit urobilinurie, splenomegalie, und Nieren Siderosis Verlangende Affection
18 ème congrès de médecine interne
Lu : Verb. Ges. Innerer Medizin. Wiesbaden 1900, 316-321
5. Chauffard M.A.
Pathogénie de l'ictère congénital de l'adulte
Sem Med (Paris) 1907, 27, 25-29
6. 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
7. 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

8. Boivin P.
Anémie hémolytique congénitale
Encycl Med Chir (Paris France) Sang 1989, 7, 13006 D10
9. Agre P.
Hereditary Spherocytosis
JAMA 24 Novembre 1989, Vol 262, N°25, 2887-2890
10. Boyd A. ; M.D.
Hereditary spherocytosis
Am Fam Physician 1989 Fev, Vol 39 (2), 167-172
11. Izrael V.
Maladie de Minkowski Chauffard. Etude de 229 cas et revue générale
Actual Hematol 1972, 6, 69-119
12. Orsini A ; Perrimond H. ; Vovan L. ; Mattei M.
Anémie hémolytique constitutionnelle par anomalie de la membrane
Hématologie Pédiatrique. Flammarion, Médecine Sciences
Septembre 1982, Ch. 12
13. Trucco J.L. ; Brown A.K. ; Charlotterville V.A.
Neonatal manifestations of hereditary spherocytosis
Am J Dis Child 1967, 113, 263-270
14. Maxwell M. ; Wintrobe
Hématologie Clinique, sphérocytose héréditaire et autres anémies liées à une anomalie de la membrane érythrocytaire
Vol 1, Ch 30, 854-874
15. Zittoun R. ; Samana M. . Marie J.P.
Manuel d'hématologie Edition Douin Paris 1988
Physiologie des GR. Anémies hémolytiques. Hémoglobinopathies.
Sept 1988, 81-96

16. Stamey C.C. ; Diamond L.K.
Congenital haemolytic anemia in the new born
Ann J Dis Child 1957, 94, Page 616
17. Mc Kinne A.A. Jr
Hereditary spherocytosis
Arch Intern Med 1965, 116, Page 257
18. Burman D.
Congenital spherocytosis in infancy
Arch Dis Child 1958, 33, Page 335
19. Becker P.S. ; Lux S.E.
Hereditary Spherocytosis and related disorders
Clinics in Haematol 1985, 14, 15-37
20. Roland M. ; Regnier C.
Diagnostic de l'ictère du nouveau-né
Encycl Med Chir (Paris France) Pédiatrie 4002, R30, 2, 1986
21. Perelman R. ; Amiel ; Tison C.L. ; Desbois J.L.
Pédiatrie Pratique Périnatalogie
Ed Maloine 1985
22. Beinhauer L.G. ; Gruhn J.G.
Dermatologic Aspect of congenital spherocytic anemias
Arch Dermatol 75, 642, 1957
23. Croom R.D. ; Mc. Millian C. ; Orringez E.P. ; Sheldon F.
Hereditary Spherocytosis
Ann Surg 1986, 203, N°1, 34-39
24. Rutkow M.D. ; M.P.H. ; M.D.H.
Twenty Years of splenectomy for hereditary spherocytosis
Arch Surg , March 1981, Vol 11, 306-308

25. Julien M. ; Bousquet R.
La splénectomie dans la maladie de Minkowski Chauffard
Actual Hematol 1972, 6, 131-139
26. Bousser J. ; Piquet H.
La maladie de Minkowski Chauffard
Rev Prat 1971, 15, 23, 3039-3047
27. Tchernia G.
Anémie hémolytique par anomalie membranaire
Rev Prat (Paris) 1989, 39, 24
28. Battin S. ; Aulenie J. ; Fortier-Beaulieu M. ; Mage K.
La lithiase biliaire extra-hépatique de l'enfant. Résultats d'une étude multicentres
Med Inf 1976, N°5, 537-557
29. Lamy P. ; Anthoine D. ; Borelly J. ; Vaillant C. ; Froment J. ; Djaidane A. ; Cheval M.
Hétérotopie médullaire médiastinale et anémie de Minkowski Chauffard (pseudo-tumeur médiastinale postérieure à fonction hématopoïétique)
Revue Française des Maladies Respiratoires, 1973, T1, N°4
30. Piquet M.B. ; Ecoiffier J.
Maladie hémolytique (type Minkowski Chauffard), et malformations veineuses congénitales
Presse Med, fev 1959, 67, N°10, 381-382
31. Alagille D. ; Colombani J. ; Dasset J. ; Fine J.M. ; Josso F.
Les examens de laboratoire
Flammarion Médecine Sciences Technique en hématologie
Ed Flammarion 1972

32. Hilien (Van) J.J. ; Haan J. ; Wintzen A.R.
Cerebral Infarction in hereditary spherocytosis
Stroke 1989, Dec 20 (12), 1755-1756
33. Alan S. ; Boyd M.D.
Hereditary spherocytosis
Am. Fam. Physician 1989, Feb Vol 39 (21), 167-172
34. Galacteros F.
Anémies hémolytiques constitutionnelles par anomalies de la membrane érythrocytaire
Pathologies du GR.
Hématologie Flammarion Médecine Sciences 1986 (29), 250-254
35. Tchernia Dreyfus M.
Hématologies néonatales
Encycl Méd Chir Paris Sang 13050 A10, 11, 1979
36. Schröter W. ; Kahsnitz Emd
Diagnosis of hereditary spherocytosis in new born infant
J Pediatr 1983, Sept 103 (3), 460-463
37. Eber S.W. ; Armbrust R. ; Schröter W.
Variable clinical severity of hereditary spherocytosis : relation to erythrocytic spectrin concentration, osmotic fragility and autohemolysis
J Pediatr 1990, 117, 409-416
38. Cynober T. ; Mohandas N. ; Tchernia G.
Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis : relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity
J Lab Clin Med 1996, 128, 259-269

39. Gottfried E.L. ; Robertson N.A.
Glycerol lysis time as a screening test for erythrocyte disorders
J Lab Clin Med 1974, 84, 746-751
40. Zanella A. ; Izzo C. ; Rebullia P. ; Zanuso F. ; Perron L. ; Sirchia G.
Acidified Glycerol lysis test : a screening test for hereditary spherocytosis
Br J Haematol 1980, 45, 481-486
41. Eber S.W. ; Pekrun A. ; Neufelt A. ; Schröter W.
Prevalence of increased osmotic fragility of erythrocytes in German blood donors : screening using a modified glycerol lysis test
Ann Haematol 1992, 64, 88-92
42. Vettore L. ; Zanella A. ; Molaro GL. ; De Matteis MC. ; Pavesi M. ; Mariani M.
A new test of the laboratory diagnosis of spherocytosis
Acta Haematol 1984, 72, 258-263
43. Romero R.R. ; Poo J.L. ; Robles J.A. ; Uriostegui H. ; Vargas F. ; Masluf-Cruz A.
Usefulness of cryohemolysis test in the diagnostic of hereditary spherocytosis
Arch Med Res 1997, 247-251
44. Streichman S. ; Gesheidt Y. ; Tatarsky I.
Hypertonic cryohemolysis : a diagnostic test for hereditary spherocytosis
Am J Hematol 1990, 35, 104-109

45. Streichman S. ; Gesheidt Y.
Cryohemolysis for the detection of hereditary spherocytosis : correlation studies with osmotic fragility and autohemolysis
Am J Hematol 1998, 206-212
46. Fairbanks G. ; Steck T.I. ; Wallack D.H.F.
Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane
Biochemistry 1971, 10, 2606-2617
47. Laemli U.K.
Clivage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4
Nature Vol 227, August 15, 1970, 680-685
48. Savvides P. ; Shalev O. ; John K.M. ; Lux S.E.
Combined spectrin and ankyrin deficiency is common in autosomal dominant hereditary spherocytosis
Blood 1993, 82, 2953-2960
49. Pelissero G. ; Zappa M. ; Vercellati L. ; Bianchi P. ; Bredi E. ; Baronciani L. ; Zanella A.
Diagnosis efficiency of red cell membrane analysis by SDS-PAGE in hereditary spherocytosis
Blood 1997, 90, 271 a
50. Johnson R.M.
Ektacytometry of red cells.
Subcellular biochemistry 1994, Vol 23, 161-203
51. Bessis M. ; Mohandas N.
Mesure continue de la déformabilité cellulaire par une méthode diffractométrique
CR Acad Sci.Ser D, 1974, 278, 3263-3265

52. Bessis M. ; Mohandas N.
A diffractometric methode for the mesurement of the cellular deformability
Blood cells 1975, 1, 307-313
53. Bessis M. ; Mohandas N.
Deformability of normal, shape-altered and pathological red cells
Blood cells 1975 (1), 315-329
54. Bessis M. ; Mohandas N.
Déformation et orientation des GR falciformes soumis à des forces de cisaillement
CR Acad Sci. Ser D 1976, 282, 1567-1570
55. Tzank A. ; Bessis M.
Un nouvel hémodiffractomètre
Sang, 1947, 71-76
56. Groner W. ; Mohandas N. ; Bessis M.
New optical technic for mesuring erythrocyt deformability with the ektasitometer
Clin Chem 1980, 26, 1435-1442
57. Clark M.R. ; Mohandas N. ; Sohet S.B. ; Hoesch R.M. ; Rosh M.E.
Osmotic gradient ektasytometry : comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance
Blood 1983, 61, 899-910
58. Delhommeau F. ; Cynober T. ; Schischmanoff P.O. ; Rohrlich P. ; Delaunay J. ; Mohandas N. ; Tchernia G.
Natural history of heredytary spherocytosis during the first year of life
Blood 2000, 95, 393-397

59. Johnson R.
Ektacytometry of red cells
Methods in enzymology 1989, Vol 173, 35-54
60. Mohandas N. ; Clark M.R. ; Heath B.P. ; Rossi M. ; Wolfe L.C. ; Lux S.E. ; Sohet S.B.
A technique to detect reduced mechanical stability of red cell membranes. Relevance to elliptocytic disorders
Blood 1982, 59, 768-774
61. Heath B.P. ; Mohandas N. ; Wyatt J.L. ; Sohet S.B.
Deformability of isolated red blood cell membranes
Biochem Biophys Acta 1982, 691, 211-219
62. Bessis M. ; Feo C. ; Jones E.
Quantification of red cell deformability during progressive desoxygenation and oxygenation in sickling disorders (the use of an automated ektasitometer)
Blood cells 1982, 8, 17-28
63. Bessis M. ; Feo C. ; Jones E. ; Nosal M.
Adaptation of the ektasytometer to automated continuous pO₂ changes : determination of erythrocyte deformability in sickling disorders
Cytométrie 1983, 3, 296-299
64. Sorette N.P. ; Lavenant M.L. ; Clark M.R.
Ektasytometric measurement of sickled cell deformability as a continuous function of oxygen tension
Blood 1987, 69, 316-323
65. Johnson R.M. ; Feo C. ; Nosal M. ; Dobo I.
Evolution of covalent antisickling compounds by pO₂ scan ektasytometry
Blood 1985, 66, 432-438

66. Alberts B. ; Bray D. ; Lewis J. ; Raff M. ; Roberts K. ; Watson J.D.
The molecular biology of the cell
Garland Publishing New York 1989, 275-290
67. Cooper R.A. ; Jandl J.H.
Lipids of human red cell membrane : normal composition and variability in disease
Semin Hemat 1979, 7, Page 297
68. Op De Kamp J.A.F.
Lipid asymetry in membranes
Ann Rev Biochem 1979, 48-49
69. Ferrel J.E. ; Lee K.J. ; Huettis W.H.
Membrane bilayer balance and erythrocyte shape. A qualitative assesement
Biochemistry 1985, 24, Page 2449
70. Seigneuret M. ; Devaux P.F.
ATP - dependante asymmetric distribution of spin labeled phospholipids in erythrocyte membrane : relation to shape changes
Proc Natl Acad Sci USA 1984, 81, 3751-3755
71. Cohen A.M. ; Liu S.C. ; Lawler J. ; Derick L. ; Palek J.
Identification of the protein 4.1 binding site to phosphatidyl serine vesicles
Biochemistry 1988, 27, 614-619
72. Rissinger M.A. ; Dotimast E.M. ; Cohen C.M.
Human erythrocyte proteine 4.2 a high copy number membrane protein is N - myristylated
J Biol Chem 1992, 267, 5680-5685

73. Anderson R.A. ; Marchesi V.T.
Regulation of the association of membrane skeletal protein 4.1 with glycophorine by polyphosphonositide
Nature 1985, 31, 295-298
74. Delaunay J. ; Boivin P.
Le squelette du globule rouge
La recherche 1990, Vol 21, N°223, 844-852
75. Lux S.E. ; Palek J.
Disorders of the red cell membrane
Blood : Principles and practices of hematology
Ed J.B. Lippincott compagny, philadelphia 1995, 54, 1701-1716
76. Hassoun H. ; Palek J.
Hereditary spherocytosis : review of the clinical and molecular aspects of the deseas
Blood Revues 1996, 10, 129-147
77. Low P.S.
Structure and function of the cytoplasmic domaine of band 3 center of erythrocyte membrane peripheral protein interactions
Biochim Biophys Acta 1990, 864, 145-167
78. Wang D.N. ; Kuhlbrandt W. ; Sarabia W.E. ; Rethmeier R.A.F.
Two dimensional structure of the membrane domain of human band 3 the anion transport protein of the erythrocyte membrane
EMBO J 1993, 12, 2233-2239
79. Yannokakos D. ; Vasseur L. ; Blouquit Y. ; Wacjman H. ; Bursaux E.
Phosphorylation sites in human erythrocyte band 3 protein
Biochim Biophys Acta 1991, 1061, 253-266

80. Anstee D.J.
The nature and the abundance of human red cell surface glycoproteins
J Immunogenet 1983, 20-41
81. Tanner M.J.A.
Molecular and cellular biology of the erythrocyte anion exchanger (AE1)
Semin Hematol 1993, 30, 30-37
82. Cartron J.P. ; Le Van Kim C. ; Colin Y.
Glycophorin C and related glycoproteins : structure function and regulation
Semin Hematol 1993, 30, 152-168
83. Cohen C.M.
The molecular organisation of the red cell membrane skeleton
Semin Hemat 1983, 20, Page 141
84. Palek J. ; Lambert S.
Genetic of the red cell membrane skeleton
Seminar in Hematology 1990, 27, 290-332
85. Gallagher P.G. ; Ferriera J.D.S.
Molecular basis of erythrocyte membrane disorders
Current Opinion in Hematology 1997, 4, 128-135
86. Delaunay J.
Genetic disorders of the red cell membranes
FEBS Lett 1995, 369, 34-37
87. Huebner K. ; Palombo A.P. ; Isobe M. ; Cosak C.A. ; Monaco S. ; Rovera G. ; Croce M. ; Curtis P.J.
The alphaspectrin gene is on chromosom 1 in mouse and man
Pract. Natl. Acad Sci USA 1989, 82, 3790-3798

88. Gallagher P.G. ; Forget B.G.
Spectrin genes in health and disease
Semin Hematol 1993, 30, 4-21
89. Winkelmann J.C. ; Forget B.G.
Erythroïd and non erythroïd spectrins
Blood 1993, 3173-3185
90. Speichert D.W. ; Marchesi V.T.
Spectrin domain proteolytic susceptibility as a probe protein structure
J Cell Biochem 1982, 18, Page 479
91. Cohen C.M. ; Dotimas E. ; Korsgren C.
Human erythrocyte membrane protein 4.2 (pallidin)
Semin Hematol 1993, 30, 119-167
92. Delaunay J.
Pathologie moléculaire de la membrane érythrocytaire
Rev Prat Paris 1993, 43 (11), 1392-1396
93. Delaunay M.D., PhD.
Hereditary hemolytic anemia due to defects in membrane proteins
Current Opinion in Hematology 1993, 59-65
94. Iolasco A. ; Miraglia Del Giudice E. ; Casmascella
Molecular pathology of inherited erythrocyt membrane disorders : hereditary spherocytosis and elliptocytosis
Haematologica 1992, Jan-Feb 77 (1), 68-72
95. Conboy J.G.
Structure, function and molecular genetics of erythroïd membrane skeletal protein 4.1 in normal and abnormal red blood cells
Semin Haematol 1993, 30, 58-73

96. Delaunay J. ; Dhermy D.
Le squelette érythrocytaire et les maladies génétiques de la forme du globule rouge
Med Sci 1990, 6, 562-570
97. Peters L. ; Lux S.E.
Ankyrins : structure and function in normal cells and hereditary spherocytosis
Sem in Haematol Vol 30 N°2, April 1993, 85-118
98. Davies C.H. ; Bennet B.
Mapping in binding site of human erythrocyt ankyrine for the anion exchanges and spectrin
J Biol Chem 1990, 265, 10589-10596
99. Hassoun H. ; Vassiliadis J.N. ; Murray J. ; Njolstad P.R. ; Rogus J.J. ; Ballas S.K. ; Schaeffer G. ; Jarolim P. ; Brabek V. ; Palek J.
Characterization of the underlying molecular defect in hereditary spherocytosis associated with spectrin deficiency
Blood Vol 90 N°1, July 1997, 398-406
100. Palek J. ; Jarolim P.
Clinical expression and laboratory detection of red blud cellu membrane protein mutations
Seminar haematology Vol 30 N°4, October 1993, 249-283
101. Agre P. ; Castella J.F. ; Zinkham W.H. ; Mc Millan C. ; Bennet V.
Partial deficiency of erythrocyte spectrin in hereditary spherocytosis
Nature 1985, 314, 380-383
102. Costa F.F. ; Agre P. ; Watkins P.C. ; Winkelmann J.C. ; Tang T.K. ; John K.M. ; Lux S.E. ; Forget B.G.
Linkage of dominante hereditary spherocytosis to the gene for the erythrocyte membrane skeleton protein ankyrin
N Engl S Med 1990, 323, 1046-1050

103. Lux S.E. ; Tse W.T. ; Menninger J.C. ; John K.M. ; Harri P. ; Shalev O. ; Chilcotte R.R. ; Marchesi S.L. ; Watkins P.L. ; Bennet V. ; Mc Intosch S. ; Collins F.S. ; Franck V. ; Ward D.C. ; Forget B.G.
Hereditary spherocytosis associated with deletion of human erythrocyte ankyrin gene on chromosom 8
Nature 1990, 345, 736-739
104. Pekrun A. ; Eber S.W. ; Kuhlmeiy A. ; Schrotter W.
Combined ankyrin and spectrin deficiency in hereditary spherocytosis
Ann Haematol 1993, 67, 89-93
105. Savvides P. ; Shalev O. ; John K.M. ; Lux S.E.
Combined spectrin and ankyrin deficiency is common in autosomal dominant hereditary spherocytosis
Blood 1993, 82, 2953-2960
106. Miraglia Del Giudice E. ; Francese M. ; Polito R. ; Nobili B. ; Iolascon A. ; Perotta S.
Apparently normal ankyrin content in unsplenectomized hereditary spherocytosis patient with the inactivation of one ankyrin (ANK1) allele
Haematology 1997, 82, 332-333
107. Inoue T. ; Kanzaki A. ; Yawata A. ; Wada H. ; Okamoto N. ; Takahaschi M. ; Sugihara T. ; Yamada O. ; Yawata Y.
Uniquely higher incidence of isolated or combined deficiency of band 3 and/or ban 4.2 as pathogenesis of autosomal dominant inherited hereditary spherocytosis in the japanese population
Int J Hematol 1994, 60, 227-238

108. Agre P. ; Asimos A. ; Castella J.F. ; Mc Millan C.
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
109. Eber S.W. ; Armbrust R. ; Schroetter W.
Variable clinical severity of hereditary spherocytosis : relation
to erythrocytic spectrin concentration, osmotic fragility, and
autohemolysis
J Pediatr 1990, 117, 409-416
110. Miraglia Del Giudice E. ; Francese M. ; Nobili B. ; Morle C. ;
Cutillo S. ; Delaunay J. ; Perotta S.
High frequency of novo mutation in ankyrin gene 1 (ANK1) in
children with hereditary spherocytosis
J Pediatr 1998, 132, 117-120
111. Miraglia Del Giudice E. ; Lombardi C. ; Francese M. ; Nobili B. ;
Conte M.L. ; Amendola G. ; Cutillo S. ; Iolascon A. ; Perotta S.
Frequent de novo monoallelic expression of beta spectrin gene
(SPTB) in children with hereditary spherocytosis and isolated
spectrin deficiency
Br J Haematol 1998, 101, 251-254
112. Tse W.T. ; Lux S.E.
Red blood cell membrane disorder in review
Br J Haematol 1999, 104, 2-13
113. Cohen H. ; Delhanty W.J.D.A. ; Lucas J.B. ; Huehns E.R.
Congenital spherocytosis, B19 parvovirus infection and
inherited interstitial deletion for the short arm of the
chromosom 8
Br J Haematol 1991, 78, 254-257

114. Okamoto N. ; Wada Y. ; Nakamura Y. ; Nakayama M. ; Chiyo N. ; Murayama K. ; Inoue T. ; Kanzaki A. ; Yaouata Y. ; Hirono A. ; Miwa J.
Hereditary spherocytic anemia with deletion of the short arm of the chromosom 8
Am J Med Genet 1995, 58, 225-229
115. Tse W.T. ; Gallagher P.G. ; Jenkins P.B. ; Wang Y. ; Benoit L. ; Speicher D. ; Winkelmann J.C. ; Agre P. ; Forget B.G. ; Marchesi J.L.
Aminoacid substitution in alpha-spectrin commonly co-inherited with non dominant hereditary spherocytosis
Am J Hematol 1997, 54, 233-241
116. Wichterle H. ; Hanspal M. ; Palek J. ; Jarolim P.
Combination of two mutant alpha-spectrin alleles underlies a severe spherolytic hemolytic anemia
J Clin Invest 1996, 98, 2300-2307
117. Becker P.J. ; Tse W.T. ; Lux S.E. ; Forget B.G.
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
118. Hassoun H. ; Vassiliadis J.N. ; Murray J. ; Yi J.J. ; Hanspal M. ; Ware R.E. ; Winter S.J. ; Chiou S.S. ; Mialek J.
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 membran in hereditary spherocytosis
J Clin Invest 1995, 96, 2623-2629

119. Hanspal M. ; Youn J.H. ; Yu H. ; Hanspal J.S. ; Lambert S. ; Palek J. ; Prchal J.T.
Molecular basis in spectrin and ankyrin deficiencies in severe hereditary spherocytosis : evidence implicating a primary defect of ankyrin
Blood 1991, 77, 165-173
120. Miraglia Del Giudice E. ; Perotta S. ; Lombardi C. ; Iolascon A.
Decision making at the bedside : diagnosis of hereditary spherocytosis in a transfused infant
A haematologica 1998, 83, 347-349
121. Eber S.W. ; Gonzales J.M. ; Lux M.L. ; Scarpa A.L. ; Tse W.T. ; Dornwell M. ; Hebers J. ; Kugler W. ; Forget B.G. ; Lux S.E.
Ankyrin-1 mutation is major cause of dominant and recessive hereditary spherocytosis
Nat Genet 1996, 13, 214-215
122. Lanciotti M. ; Perutelli P. ; Valetto A. ; Dimartino D. ; Morri P.G.
Ankyrin deficiency in the most common defect in dominant and non dominant hereditary spherocytosis
Haematologica 1997, 82, 460-462
123. Kanzaki A. ; Takezono M. ; Kaku M. ; Yawata A. ; Ozcan R. ; Kugler W. ; Eber S.W. ; Yawata Y.
Molecular and genetic characteristics in Japanese patients with hereditary spherocytosis frequent band 3 mutations and rarer ankyrin mutation
Blood 1997, 90 Suppl 1, 66-76

124. Jarolim P. ; Palek J. ; Rubin H.L. ; Prchal J.T. ; Korsgren G. ; Cohen C.M.

Band 3 Tuscaloosa : Pro 327 @ Arg 327 Substitution in the cytoplasmic domain of erythrocyte band 3 protein associated with spherolytic hemolytic anemia and partial deficiency of protein 4.2

Blood 1992, 80, 523-529

125. Rybicki A.C. ; Qiu J.J.H. ; Musto S. ; Rosen N.L. ; Nagel R.L. ; Schwartz R.S.

Human erythrocyt protein 4.2 deficiency associated with hemolytic anemia and a homozygous 40 Glu @ Lys substitution in the cytoplasmic domain of band 3 (band 3 Montefiore)

Blood 1993, 81, 2155-2165

126. Kanzaki A. ; Hayette S. ; Morle L. ; Inoue F. ; Matsuyama R. ; Inoue T. ; Yawata A. ; Wada H. ; Vallier A. ; Aloisio N. ; Yawata Y. ; Delaunay J.

Total absence of proteine 4.2 and partial deficiency of band 3 in hereditary spherocytosis

Br Haematol 1997, 99, 522-530

127. Perotta S. ; Polito R. ; Conte M.L. ; Nobili B. ; Cutillo S. ; Miraglia Del Giudice Nigro V. ; Iolascon A. ; Amendola G.

Hereditary spherocytosis due to a novel frameshift mutation in AE1 cytoplasmic COOH Terminal tail : band 3 Vesuvio

Blood 1999, 93, 2131-2132

128. Alloisio N. ; Maillet P. ; Carre G. ; Texier P. ; Baklouti F. ; Philippe L. ; Delaunay J.

Hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. Association with a non sens mutation of the band 3 gene (allele Lyon) and aggravation by low expression allele occuring in trans (allele Genas)

Blood 1996, 88, 1062-1069

129. Alloisio N. ; Texier P. ; Vallier A. ; Ribeiro M.L. ; Morle L. ; Bozon M. ; Bursaux E. ; Maillet P. ; Goncalves P. ; Tanner M.J.A. ; Tamagnini G. ; Delaunay J.
Modulation of clinical expression and band 3 deficiency in hereditary spherocytosis
Blood 1997, 90, 414-420
130. Ribeiro M.L. ; Alloisio N. ; Almeda H. ; Texier P. ; Lemos C. ; Minoso C. ; Morle L. ; Bey-Labet F. ; Rudigoz R.C. ; Delaunay J. ; Tamagnini G.
Hereditary spherocytosis with total absence of band 3 in a baby with mutation Coimbra (V488M) in the homozygous state
Blood 1997, 90, 265 a
131. Jarolim P. ; Schayakul C. ; Prabakaran D. ; Jiang L. ; Stuart-Tilley A. ; Rubin H.L. ; Simova S. ; Zavadil J. ; Herrin J.T. ; Brouillette J. ; Somers M.J. ; Seemanova E. ; Brugnara C. ; Guay-Woodford L.M. ; Alper S.L.
Autosomal dominant distal renal tubular acidosis in associated in three families with heterozygosity for the R 589 H mutation in the AE1(3-3) Cl-HCO₃ exchanger
J Biol Chem 1998, 273, 6380-6388
132. Rysava R. ; Tesar V. ; Jirsa M. ; Brabec V. ; Jarolim P.
Incomplete distal renal tubular acidosis coinherited with a mutation in band 3 (AE1) gene
Nephrol Dial Transplant 1997, 12, 1869-1873
133. Bruce L.S. ; Cope D.L. ; Jones G.K. ; Schofield M.E. ; Burley M. ; Pouey S. ; Unwin R.S. ; Wrong O. ; Tanner M.J.
Familial distal renal tubular acidosis is associated with mutation in the red cell anion exchanger (band 3, AE1) gene
J Clin Invest, 1997, 100, 1693-1707

134. Lanciotti M. ; Perutelli P. ; Valetta A. ; Di Martino D. ; Murri P.G.
Ankyrine deficiency is the most common defect in dominant and non dominant hereditary spherocytosis
Haematologica 1997, 82, 460-462
135. Yawata Y.
Red cell membrane protein band 4.2 : phenotypic, genetic and electron microscopic aspects
Biochimica and Biophysica Acta 1994, 131-148
136. Kanzaki A. ; Yasunaga M. ; Okamoto N. ; Inoue T. ; Yawata A. ; Wada H. ; Andoh A. ; Hodohara K. ; Fujiyama Y. ; Bamba T. ; Harano T. ; Harano K. ; Yawata Y.
Band 4.2 Shiga : 317 CGC @ TGC in compound heterozygot with 142 GCT @ ACT results in band 4.2 deficiency an microspherocytosis
Br Haematol 1995, 91, 333-340
137. Kanzaki A. ; Yawata Y. ; Yawata A. ; Inoue T. ; Okamoto N. ; Wada H. ; Harano T. ; Harano K. ; Wilmotte R. ; Hayette S. ; Nakamura Y. ; Niki J. ; Kawamura Y. ; Nakamura S. ; Matsuda M.
Band 4.2 Kamatsu 526 GAT @ TAT (175 Asp @ Tyr) in exon 4 of the band 4.2 gene associated with total deficiency of band 4.2, hemolytic anemia with ovalo-stomatocytosis and masked disruption of the cytosqueletal network
Int J Hematol 1995, 61, 165-178
138. Hayette S. ; Morle L. ; Bozon M. ; Ghaner A. ; Risinger M. ; Korsgren C. ; Tanner M.J. ; Fattoum S. ; Cohen C.M. ; Delaunay J.
A point mutation in the protein 4.2 gene (allele 4.2 Tozeur) associated with hereditary hemolytic anemia
Br J Haematol 1995, 89, 762-770

139. Hayette S. ; Dhermy D. ; Dos Santos M.E. ; Bozon M. ; Drenckham D. ; Alloisio N. ; Texier P. ; Delaunay J. ; Morle L.
Deletional frameshift mutation in protein 4.2 gene (allele 4.2 Lisboa) associated with hereditary hemolytic anemia
Blood 1995, 85, 250-256
140. Caprotti R. ; Porta G. ; Franliosi C. ; Code Casa G. ; Romano F. ; Musco F. ; Uggeri F.
Laparoscopic splenectomy for hematological disorders : our experience in adult and pediatric patient
Int Surg 1998, 83, 303-307
141. Curran T.J. ; Foley M.I. ; Swanstrom L.L. ; Campbell J.
Laparoscopy improves outcomes for pediatric splenectomy
J Pediatr Surg 1998, 33, 1498-1500
142. Rescorla F.S. ; Breitfeld P.P. ; West K.W. ; Williams D. ; Engun S.A. ; Grosfeld J.L.
A case controlled comparison of open and laparoscopic splenectomy in children
Surgery 1998, 124, 670-676
143. Esposito C. ; Corcione F. ; Asencione G. ; Garipol V. ; Di Piette F. ; De Pasquale M.
Splenectomy in childhood. The laparoscopic approach
Surg Endosc 1998, 12, 1445-1448
144. Pedersen F.K.
Post splenectomy infection in Danish children splenectomized (1969-1978)
Acta Pediatr Scand 1983, 72, 589-595
145. Schilling R.F.
Spherocytosis, splenectomy, strokes, and heard attacks
Lancet 1997, 350, 1677-1678

146. Tchernia G. ; Bader Meunier B. ; Berterottier P. ; Eber S. ;
Domergues J.P. ; Gauthier F.
**Effectiveness of partial splenectomy in hereditary
spherocytosis**
Curr Opin Hematol 1997, 4, 136-141
147. Morinet F. ; Acadjidi N.
Parvovirus B19
Encycl Med Chir Paris Pédiatrie 2003, A290-A30 6 pages
148. Alexandrova R. ; Shikova E.
Parvovirus B19
Experimental pathology and parasitology Bulgarian Academy of
Sciences 1999
149. Parvovirus virologie on line.com/viruses 6 pages
150. Anderson L.J.
Human parvovirus
Journal of infection diseases 1990, 161, 603-608
151. Young N.S.
B 19 Parvovirus
Viral Pathogenesis 911-928
152. Cheinisse L.
Une 5 ème maladie éruptive : le mégalérythème épidémique
Semaine Médicale 1905, 25, 205-207
153. Chalvon-Demersay A.
**Infection à parvovirus B19 chez l'enfant : des manifestations
cliniques très variées**
La Revue du Praticien Médecine Générale Tome 8 N°273, Nov
1994, 27-31

154. Aractingi S. ; Bakhos D. ; Flageul B. ; Verola O. ; Brunet M. ; Dubertret L. et all
Immunohistochemical and virological study of skin in the papular purpuric gloves and socks syndrom
Br J Dermatol 1996, 135, 599-602
155. Pattison J.R.
B 19 Virus - a pathogenic human parvovirus
Blood Reviews 1987, 1, 58-64
156. Takahashi Y. ; Murai C. ; Shibata S. ; Munakata Y. ; Ishii T. ; Ishii K. and all
Human parvovirus B19 is causative agent for rheumatoid arthritis
Proc Natl Acad Sci USA 1998, 95, 8227-8232
157. Altschuller E.L.
Parvovirus B19 and the pathogenesis of rheumatoid arthritis : a case of historical reasoning
Lancet 1999, 354, 1026-1027
158. Godeau B. ; Palazzo E. ; Morinet F. ; Deplanche M. ; Deforge L. ; Schaeffer A. ; Kahn M.F.
Is Still's disease associated with parvovirus B 19 infection ?
Lancet 1995, 345, 59-60
159. Chevrel G. ; Calvet A. ; Belin V. ; Miossec P.
Dermatomyositis associated with the presence of parvovirus B19 DNA in muscle
Rheumatology 2000, 39, 1037-1039
160. Crowson A.N. ; Magro C.M. ; Dawood M.R.
A causal role for parvovirus B 19 infection in adult dermatomyositis and other autoimmune syndromes
J Cutan Pathol 2000, 27, 505-515

161. Hsu T.C. ; Tsay D.J.
Human Parvovirus B19 infection in patients with systemic lupus erythematosus
Rheumatology 2001, 40, 152-157
162. Ferguson P.J. ; Saulsbury F.T. ; Dowel S.F. ; Török T.J. ; Erdman D.D. ; Anderson L.J.
Prevalence of human parvovirus B19 infection in children with Henoch-Schönlein purpura
Arthritis Rheum 1996, 39, 880-882
163. Finkel T.H. ; Török T.J. ; Ferguson P.J. ; Durnington E.L. ; Zaki S.R. ; Leung D.Y. and all
Chronic parvovirus B19 infection and systemic necrotising vasculitis : oportunistic infection or aetiological agent
Lancet 1994, 343, 1255-1258
164. Yoto Y. ; Kudoh T. ; Haseyama K. ; Suzuki N. ; Chiba S. ; Matsunaga Y.
Human parvovirus infection in Kawasaki disease
Lancet 1994, 344, 58-59
165. Chua P.K. ; Nerurkar V.R. ; Yu Q. ; Woodward C.L. ; Melish M.E. ; Yanagihara R.
Lock of association between kawasaki syndrome and infection with parvovirus B19, human herpesvirus, TT virus, GB virus C/hepatitis G virus and chlamydia pneumoniae
Pediatr Infect Dis 2000, 19, 477-479
166. Gabriel S.E. ; Espy M. ; Erdman D.D. ; Bjornsson J. ; Smith T.F. ; Hunder G.G.
The role of parvovirus B19 in the pathogenesis of giant cell arteritis. A preliminary evolution
Arthritis rheum 1999, 1255-1258

167. Block J.A. ; Sequeira W.
Raynaud's phenomenon
Lancet 2001, 357, 2042-2048
168. Dingli D. ; Pfizenmaier D.H. ; Arrondee E. ; Wennberg P. ; Spittell P.L. ; Chang-Miller A. and all
Severe digital arterial occlusive disease and acut parvovirus B19 infection
Lancet 2000, 356, 312-314
169. Brown K.E. ; Hibbs J.R. ; Gallinella G. ; Anderson S.M. ; Lehman E.D. ; Mc Carthy ; Jung N.S.
Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyt P antigen)
New Engl J Med 1994, Vol 330 N°17, 1192-1196
170. Chitnavis V.N. ; Patou G. ; Makar Y.F. ; Kendra J.R.
B19 parvovirus induced red cell aplasia complicating acute cold antibody mediated haemolytic anemia
British Journal of Haematology 1990, 76, 3 433-439
171. Czachor J.S.
Parvovirus B19
Infections Diseases Newsletter 1989, 8 (11), 84-86
172. Sato T. ; Veda D. ; Sakota S.I. ; Haseyama K. ; Chiba S. ; Kudoh T.
Pancytopenia with hemophagocytosis secondary to parvovirus B19 infection in a familily with hereditary spherocytosis
Pediatrics international 1999, 41, 561-564
173. Kunesh J.P. ; M.D.
Clinical utility of DNA based testing for parvovirus B19
Critical review University of California San Francisco

174. Morinet F. ; Leruez-Valle M. ; Pallier C.
Erythroblastopénie et parvovirus B19
Médecine thérapeutique volume 2 N°1, 1996 Janv, 70-72
175. Brown E. ; Anderson S.M. ; Young M.S.
Erythrocyt P antigene : cellular receptor of B19 parvovirus
Sciences 262, 1993, 114-117
176. Anderson L.J. ; Young M.S.
Human parvovirus B19
Monographs in Virology Vol 20, 1997, Ed WP Parks New York
177. Labau E. ; Bonne E.
Infection par Parvovirus B19
Presse Médicale 1986, 25, 162-166
178. Marnet F. ; Tchernia G.
Parvovirus et hématopoïèse
Méd science 1991, 7, 127-137
179. Brown T. ; Anand A. ; Ritchie L.B. ; Clewley J.P. ; Reid T.M.
Intrauterin Parvovirus infection associated with Hydrops foetalis
Lancet 1984, 1033-1034
180. Public Health Laboratory Service Working
Party on fifth diseas : prospective study of human parvovirus B19 infection in pregnancy
Br Med J 300, 1990, 1166
181. Anderson L.J. ; Hurwitz E.S.
Human parvovirus B19 and pregnancy
Clin perinatal 1988, 15, 273

182. Jordan J.A. ; Huff D. ; Deloia J.A.
Placental cellular immune respons in women infected with parvovirus B19 during pregnancy
Clin Diagn Lab Immunol 2001, 8, 288-292
183. Johan K. ; Caroll S. ; Byrne D. ; Ashworth M. ; Soothill P.
Parvovirus as a differential diagnosis of hypdros foetalis in the first trimester
Fetal Diagnosis Ther 2000, 15, 234-236
184. Schild R.L. ; Bald R. ; Plath H. ; Eis-Hubinger A.M. ; Enders G. ; Hansmann M.
Intrauterine management of foetal parvovirus B19 infection
Ultrasound Obstet Gynecol 1999, 13, 161-166
185. Heegaard E.D. ; Hasle H. ; Skibsted L. ; Bock J. ; Brown K.E.
Congenital anemia caused by parvovirus B19 infection
Pediatr Infect Dis J 2000, 19, 1216-1218
186. Fairley L.K. ; Smoleniec J.S. ; Caul O.E. ; Miller E.
Observational study of effect of intrauterine transfusion on outcom of foetal hydrops after parvovirus B19 infection
Lancet 1995, 346, 1335-1337
187. Courouce A.M. ; Ferchal F. ; Morinet F. ; Muller A. ; Drouet J. ; Soulier J.P. ; Perol Y.
Human parvovirus infection in France
Lancet 1984, 1, 160
188. Courouce A.M. ; Ferchal F. ; Morinet F. ; Perol Y. ; Drouet J. ; Muller A. ; Soulier J.P.
Parvovirus (SPLV) et antigène Aurillac
Etude de 18 observations
Rev Fr Transfus Immuno-hémato 1984, 27, 5-19

189. Cossart Y.E. ; Field A.M. ; Cant B.
Parvovirus et particles in human sera
Lancet 1975, 1, 72-73
190. Okochi K. ; Mori R. ; Miyazaki M.
Nakatami antigen and human parvovirus
Lancet 1984, 160-161
191. Shirashi H. ; Wong D. ; Purcell R.H.
Antibody to human parvovirus in outbreak of erythema infectieusom in Japan
Lancet 1985, 11, 982-983
192. Sheerson J.M. ; Mortimer P.P. ; Vandervelde E.M.
Febrile illness due to a parvovirus
Br Med J 1980, 201, 1580
193. Sergeant G.R. ; Mason K. ; Topley J.M.
Outbreak of aplasic crisis in sickle cell anemia associated with parvovirus-like agent
Lancet 1981, 2, 595-597
194. Pattison J.R. ; Jones S.E. ; Hodgson J.
Parvovirus infection and hypoplastic crisis in sickle cell anemia
Lancet 1981, 664-665
195. Anderson M.J. ; Davis L.E. ; Hodgson S.E. ; Murtaza M. ; Pattison J.R.
Onccurrence in infection with a parvovirus-like agent in children withe sickle cell anemia duringe two years period
J Clin Pathol 1982, 35, 744-749
196. Kelleher J.F. ; Luban N.L.C. ; Cohen B.J.
Human serum parvovirus : a specific cause of aplasic crisis in children with hereditary spherocytosis
J Pédiatre 1983, 152, 720-722

197. Morinet F.
Erythroïèse foetale et parvovirus B19
Path Biol 1992, 4, 771-773
198. Cado S. ; Lewin P. ; Ulrich G.
Parvovirus B 19
Laboratoire Cerba 1994, N°42, 1-4
199. Sohier R.
Infection à Parvovirus
EMC Inf 1985, 3, 8046 A 10
200. Van Ros G.
Les crises aplasiques de la drépanocytose majeure et d'autres affections hématologiques sont dues à l'agent du mégalérythème épidémique : le parvovirus B19
Ann Soc Belge Méd Trop 1988, 68, 179-183
201. Anderson M.J. ; Davis L.R. ; Jones S.E. ; Pattison J.R. ; Sergeant G.R.
The developpement and use of an antibody capture radio immuno assay for specific IgM to human parvovirus Like agent
J Hyg (Camb) 1982, 88, 309-324
202. Anderson M.J. and coll
Detection of antibodies and antigenes of human parvovirus B19 by enzyme linked immunoasorbent assay
J Clin Microbiologie 1986, 24, 522-526
203. Schwartz and coll
Parvovirus B19 infection of the foetus : histologie and in situ hybridization
Clinic Microbiologie 1991, 96, 121-126

204. Hassam S. and coll
In situ hybridization for the detection of human parvovirus B19 nucleic acid sequences in paraffine embedded specimens
Virchows Arch B Cell Pathol 1990, 59, 257-261
205. Morey A.L. and coll
Non isotopic in situ hybridization and immunophenotyping of affected cells in the investigation of human foetal parvovirus infection
J Clin Pathol 1992, 45, 673-678
206. Salimans M.M.
Detection of human parvovirus B19 DNA by Dot Hybridization and the PCR
Behring Inst Mitt 1990, 85, 39-45
207. Cassinotti P. and coll
Human parvovirus B19, routine diagnosis by a new nested PCR assay
Journal of Medical Virologie 1993, 40, N3
208. Perelman
Pédiatrie pratique tome 2 Maladies infectieuses
Flammarion 1992, 1162-1167
209. Lefrère J.J.
Attitude thérapeutique dans l'anémie due au Parvovirus
Gaz Méd 1985, 92, 81-83
210. Lefrère J.J. ; Courrouce A.M. ; Soulier J.P.
Le Parvovirus B19
Presse Méd 1986, 15, 703-707

211. Anderson M.J. ; JONES S.E. ; Minson A.C.

Diagnosis of human parvovirus infection by Dot Blot
hybridisation using cloned viral DNA

J Méd Virol 1985, 15, 163-172



VU

NANCY, le 3 DÉCEMBRE 2003

Le Président de Thèse

Professeur P. MONIN

NANCY, le 18 DÉCEMBRE 2003

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur P. NETTER

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 22 DÉCEMBRE 2003

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur C. BURLET

RESUME DE LA THESE

Anémie hémolytique chronique d  e à une anomalie de la membrane du globule rouge, la Sphérocytose Héréditaire bénigne est habituellement asymptomatique. Au cours d'une infection par le parvovirus B19, agent pathogène viral responsable de la V   me maladie, les patients porteurs de sphérocytose présentent une anémie aiguë intense nécessitant un traitement d'urgence. L'originalité de ce présent travail fut la découverte d'une sphérocytose héréditaire, inconnue jusqu'alors, au décours d'une infection par le parvovirus B19. Il expose une physiopathologie moléculaire complexe de ces deux maladies et propose un éventail d'examens complémentaires permettant d'aboutir à ce diagnostic difficile, et à la surveillance ultérieure du patient.

Discovery of a case of Hereditary Spherocytosis to the waning of an infection with Parvovirus B19 in the child in connection with an observation.

THESE : MEDECINE GENERALE - ANNEE 200.

MOTS CLEFS :

- Sphérocytose Héréditaire
 - Parvovirus B19
 - Cinquième maladie infantile.
-

Faculté de Médecine de Nancy

9 Avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex