

Dépistage de la sphérocytose héréditaire : quel est le meilleur algorithme utilisant les paramètres érythrocytaires et réticulocytaires ?

Anne-Sophie Adam
AABC – LHUB-ULB

Corata, Troyes, 26 septembre 2019



INTRODUCTION

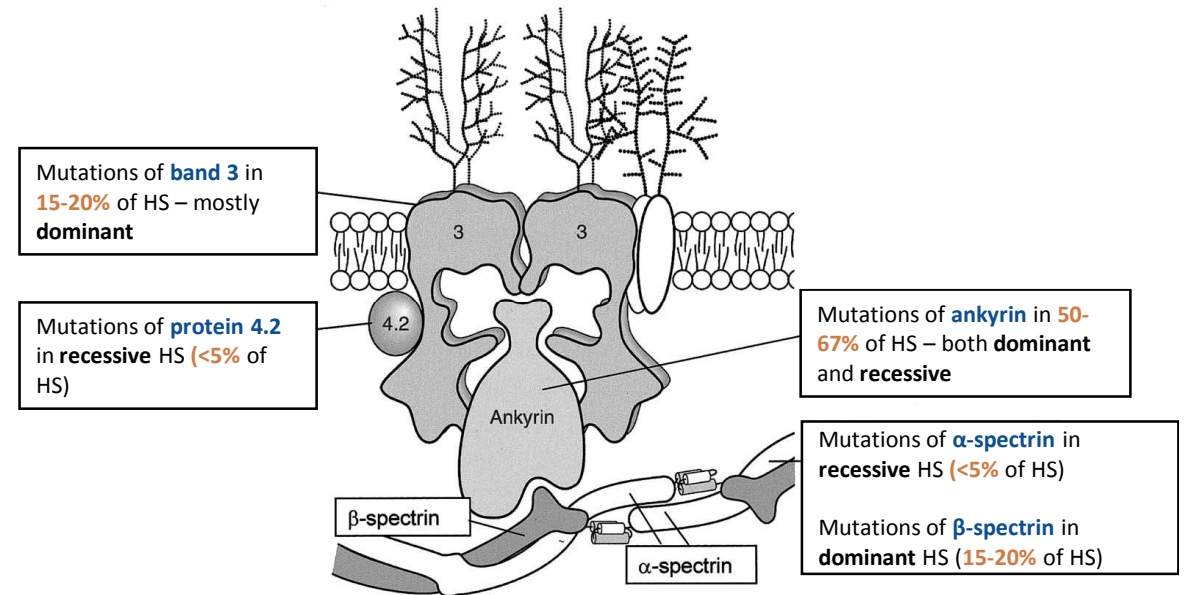
Sphérocytose Héréditaire (1)

- “ **1871:** 1^{ère} description de la SH par **2 médecins belges**, Vanlair et Masius (« microcythémie »)
- “ **SH: Anémie hémolytique congénitale**
 - “ Liée à la présence de GR de forme sphérique sur le frottis sanguin (sphérocytes)
 - “ Secondaire à une anomalie génétique d'une des protéines de la membrane du GR
- “ **Prévalence:**
 - “ 1:2000 à 1:5000 en Europe du Nord
 - “ Probablement sous-estimée (formes bénignes non diagnostiquées)

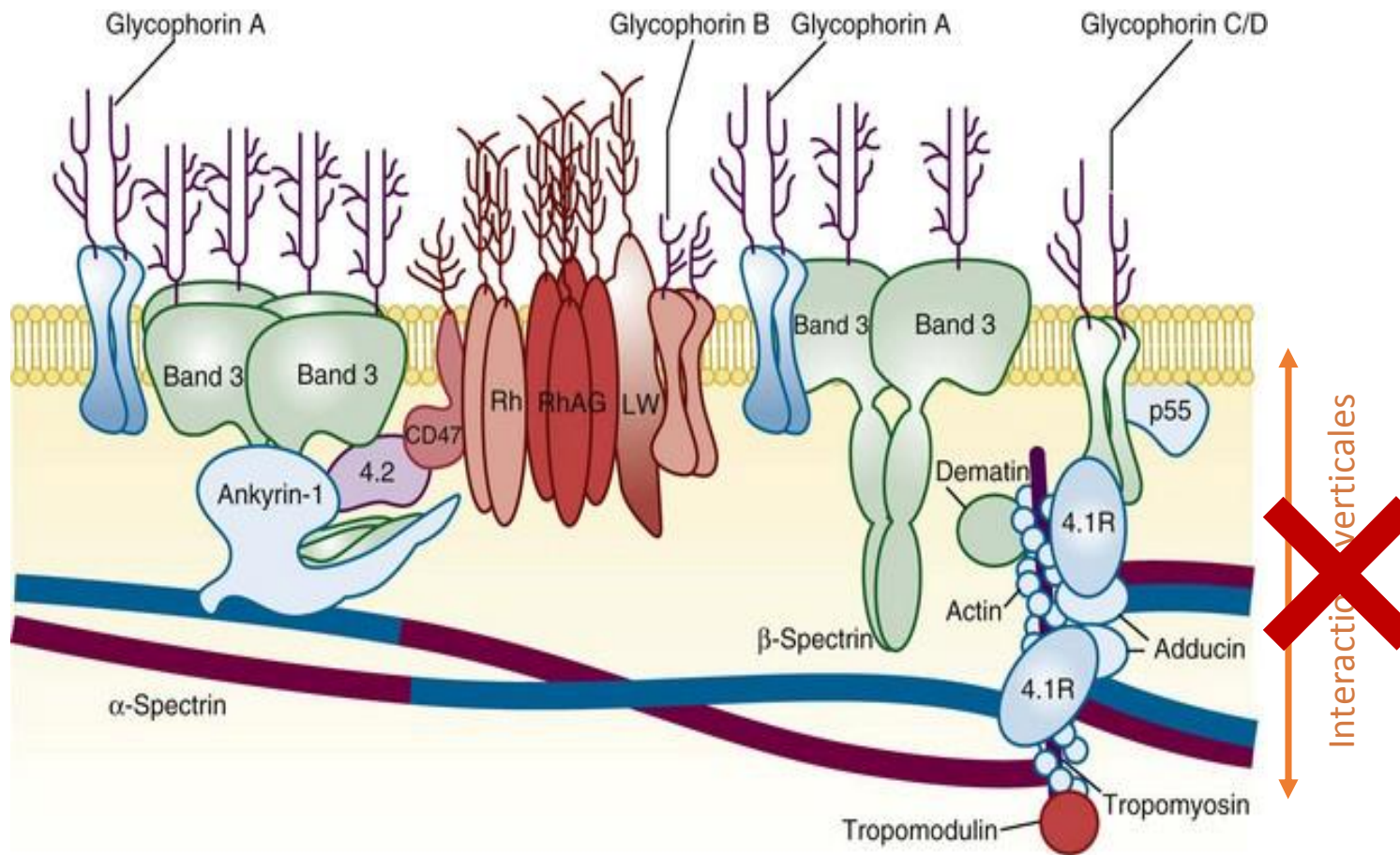
Sphérocytose Héréditaire (2)

“ Pathologie très hétérogène:

- “ Sévérité clinique
- “ Âge au moment du diagnostic
- “ Mode de transmission
- “ Étiologies moléculaires



Physiopathologie de la SH (1)

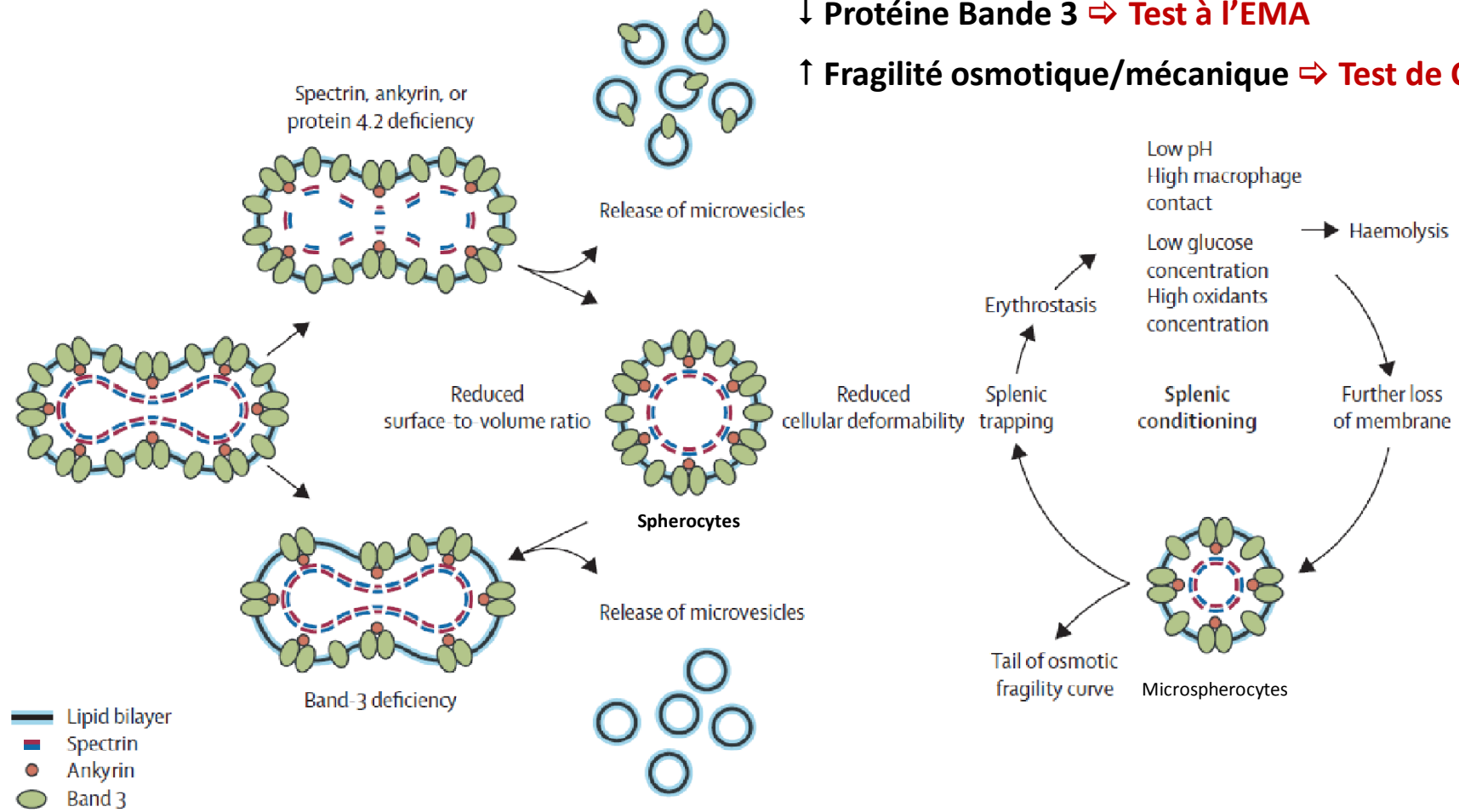


⇒ Perte de membrane
sous forme de vésicules

Physiopathologie de la SH (2)

↓ Protéine Bande 3 ⇨ Test à l'EMA

↑ Fragilité osmotique/mécanique ⇨ Test de Cryohémolyse



Dépistage de la SH

- “ **Histoire familiale:** positive dans 75% des cas
- “ **Histoire clinique:** Ictère persistant (néonatal), anémie, splénomégalie, calculs biliaires
- “ **Tests de laboratoires**
 - “ **Tests de 1^{ère} ligne**
 - “ Morphologie du GR
 - “ Paramètres biologiques d’hémolyse
 - “ **Tests de 2^{nde} ligne**
 - “ Tests de cryohémolyse
 - “ Test à l’éosine-5-maléimide (EMA)



*IDENTIFICATION, DONNEES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES
(ou joindre la biologie) DU PATIENT (en gras = données indispensables)*

Nom			
Prénom			
Date de naissance	/ /	Date de prélèvement	/ /
Origine géographique	<input type="radio"/> Caucasienne <input type="radio"/> Africaine <input type="radio"/> Asiatique <input type="radio"/> Inconnue	Date de biologie	/ /
Suspicion	<input type="radio"/> SH <input type="radio"/> Elliptocytose <input type="radio"/> Autre :		
Sexe	<input type="radio"/> M <input type="radio"/> F	Bilirubine totale	mg/dL
Histoire familiale	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	Bilirubine non conj.	mg/dL
Anémie hémolytique	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	LDH (valeurs de réf.)	U/L
Splénomégalie	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	Haptoglobine	mg/dL
Lithiase biliaire	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	Hémoglobine	g/dL
Diabète	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	GR	10 ⁶ /mm ³
Ictère néonatal	<input type="radio"/> oui <input type="radio"/> non	MCV	fL
Transfusion ? O/N (date de la dernière transfusion :)		MCHC	g/dL
Traitement :		MCH	pg
		RDW	%
		Réticulocytes	/mm ³ (val. absolue)
Commentaire – Lien de parenté		Morphologie GR	

Indices érythrocytaires/réticulocytaires et SH



- “ Développement récent de nombreux paramètres érythrocytaires et réticulocytaires sur les **nouveaux automates d'hématologie**
 - “ Nombreuses publications quant à leur efficacité comme **outil de dépistage de la SH**
 - “ Haut potentiel de ces algorithmes comme **test de 1^{ère} ligne**

Automates	Paramètre intéressant	Définition	Intérêt dans la SH	Explication
Siemens (Advia 2120) Abbot Diagnostics (CELL-DYN Sapphire)	% Hyper % HPR	% de GR hyperdenses/hyperchromes (MCHC > 41 g/dL)	% Hyper/HPR ↑	Perte membranaire associée à une ↑ de la perméabilité aux cations monovalents ↳ Hyperactivité de la pompe à Na ⁺ ↳ Perte de Na ⁺ > Entrée de K ⁺ ↳ Déshydratation ↳ ↑ du MCHC
Beckman-Coulter (DxH800, LH755, LH780)	MSCV MRV	Volume moyen des cellules sphérisées Volume moyen réticulocytaire	MSCV < MCV MRV ↓	Déformabilité ↓ des sphérocytes ↳ Incapables d'↑ leur volume en solution hypo-osmotique Perte membranaire débutant dès l'érythropoïèse
Sysmex (XNs, XT-4000i, XE-5000)	IRF MicroR Hypo-He	Fraction réticulocytaire immature % de GR microcytaires (MCV < 60 fL) % de GR hypo-hémoglobinisés (MCH < 17 pg)	Rét/IRF ↑ Micro R ↑ et MicroR/Hypo-He ↑	Taux de réticulocytes élevé sans élévation proportionnelle de l'IRF ↳ Hypothèse: coloration anormale/diminuée des réticulocytes Sphérocytes = cellules hyperdenses de petite taille ↳ ↑ du % de GR microcytaires ↳ ↑ du % de GR hyperdenses et donc ↓ du % de GR hypo-hémoglobinisés



OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Objectifs de l'étude

- 1) Évaluer et comparer l'efficacité de 6 algorithmes de dépistage de la SH publiés dans la littérature
 - Déterminer l'algorithme de dépistage le plus approprié pour notre pratique clinique

- 2) Établir nos propres valeurs cut-offs sur le XN-9000 (Sysmex) et création de notre nouvel algorithme de dépistage de la SH



PARTIE EXPÉRIMENTALE



**PREMIÈRE PARTIE: ÉVALUATION/COMPARAISON DES
ALGORITHMES PUBLIÉS**

Contexte

- “ **Jusqu’en juin 2018:** utilisation d’un algorithme de dépistage de la SH basé sur les paramètres spécifiques au **DxH800 de Beckman Coulter**
 - Algorithme publié en 2014 par Lazarova *et al.*

- “ **Juillet 2018:** Harmonisation des laboratoires d’hématologie du LHUB-ULB et remplacement du DxH800 par le **XN-9000 de Sysmex**

Matériel et Méthode (1)

“ Population:

“ 96 patients:

“ 12 patients SH (dont 1 patient splénectomisé)

“ 84 patients non-SH

“ **Diagnostic:** Histoires clinique et familiale + Tests de laboratoire (cryohémolyse, test à l’EMA, érythrocytométrie et SDS-PAGE)

“ Pour chaque échantillon de patient: en parallèle sur les 2 automates

“ Hémogramme complet

“ Comptage réticulocytaire

“ Paramètres érythrocytaires/réticulocytaires spécifiques à chaque automate

“ DxH800: MSCV, MRV





“ XN-9000: IRF, MicroR, Hypo-He

Matériel et Méthode (2)

“ Algorithmes évalués:


- “ 3 algorithmes utilisant les paramètres spécifiques aux automates **Beckman Coulter**
- “ 3 algorithmes utilisant les paramètres spécifiques aux automates **Sysmex**

Résultats et Discussion (1)

Algorithme	Analyseur (original)	N de patients SH (original)	Sensibilité (%) (original)	Spécificité (%) (original)	PPV (%) (original)	NPV (%) (original)
Bobée <i>et al.</i> 2018	XN-9000 (XE-5000)	12 (47)	83,3 (100)	89,3 (92,1)	52,6	97,4
Persijn <i>et al.</i> 2012	XN-9000 (XE-5000)	12 (25)	58,3 (84)	96,4 	70,0 (43,8)	94,2
Mullier <i>et al.</i> 2011	XN-9000 (XE-2100, XE-5000)	12 (45)	50,0 (100)	96,4 (99,3)	66,7 (75)	93,1 (100)
Liao <i>et al.</i> 2018	DxH800 (LH780)	12 (67)	100 (95,5)	7,1 (94,9)	13,3	100
Nair <i>et al.</i> 2015	DxH800 (LH755)	12 (57)	100 (84,2)	73,8 (94,7)	35,3  	100
Lazarova <i>et al.</i> 2014	DxH800 (DxH800)	12 (48)	100,0 (100)	25,0 (90)	16,0 	100

*original: automate utilisé, nombre de patients SH inclus et performances de l'algorithme publié

 Algorithmes basés sur les paramètres spécifiques aux automates **Sysmex**

 Algorithmes basés sur les paramètres spécifiques aux automates **Beckman Coulter**

Résultats et Discussion (2)

“ Limitations:

- “ Algorithmes basés sur les analyseurs Sysmex évalués sur des **modèles différents** du nôtre
- “ Méthodes de diagnostic des patients SH **pas toujours comparables**
- “ Nombre de patients SH inclus **différent** entre les études (n=12 à n=67)

SECONDE PARTIE: ÉTABLISSEMENT D'UN NOUVEL ALGORITHME

Contexte

- “ Performances **non satisfaisantes** des algorithmes de dépistage de la SH publiés dans la littérature et utilisant les automates Sysmex
- “ Nécessité d’établir de **nouvelles valeurs cut-off sur le XN-9000** afin de créer notre **nouvel algorithme de dépistage de la SH**

Matériels et Méthode (1)

“ Patients:

- “ **22** patients SH
- “ **100** patients non-SH = patients dont l’absence de SH a été confirmée par les tests de laboratoire et les histoires clinique/familiale
- “ **139** patients atteints de désordres hématologiques divers

	N	Confirmation du diagnostic
SH	22	Cryohémolyse, test à l’EMA, ektacytométrie, SDS-PAGE
Non-SH	100	
Déficit en G6PD	24	Dosage enzymatique
Drépanocytose	30	Etude de l’hémoglobine par électrophorèse capillaire en milieu alcalin et acide, HPLC et IEF
Trait drépanocytaire	28	
B-thalassémie mineure	27	Etude de l’hémoglobine par électrophorèse capillaire en milieu alcalin
Carence en fer	30	Dosage de la ferritine

Matériels et Méthode (2)

“ **Pour chaque échantillon de patient:** récolte des paramètres hématologiques et réticulocytaires d'intérêt sur le XN-9000

- “ Réticulocytes ($10^3/\mu\text{L}$)
 - “ IRF (%)
 - “ MicroR (%)
 - “ Hypo-He (%)
- } Rét/IRF
- } MicroR/Hypo-He

Résultats et Discussion (1)

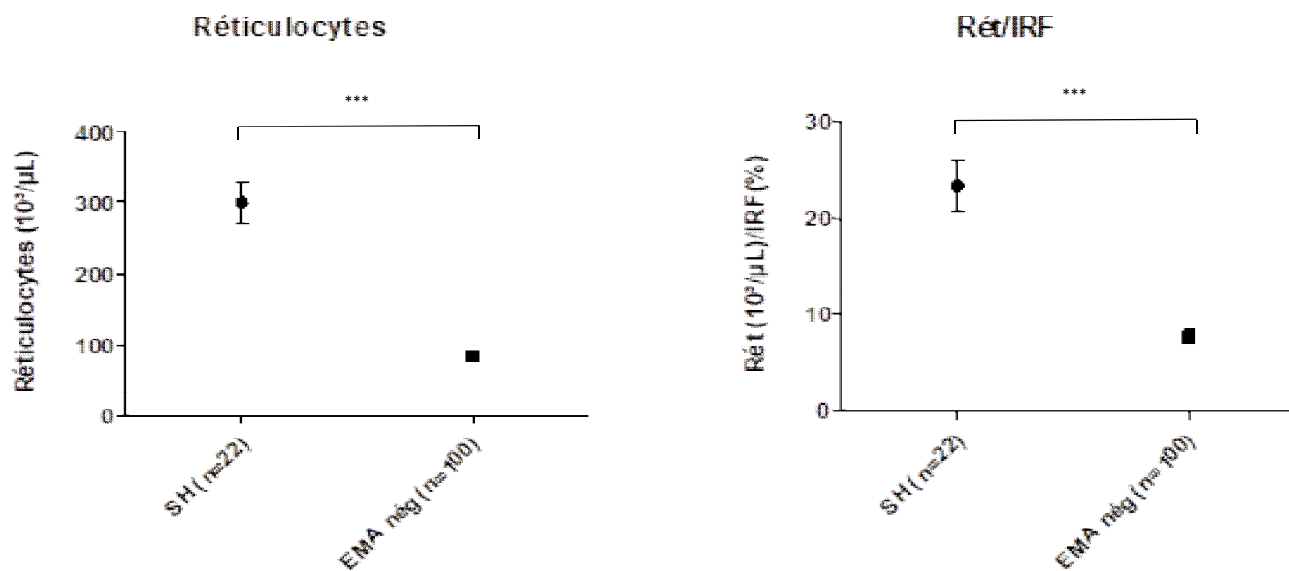
Patients SH:

	SH Sévère/Modérée (n=14) (Hb ≤ 12 g/dL)	SH Bénigne (n=8) (Hb > 12 g/dL)	
Âge (année)	6,5 (0 – 48)	16 (6 – 40)	
GR (10 ³ /μL)	3,4 (2,3 – 4,1)	4,9 (4,0 – 5,8)	
Hb (g/dL)	9,7 (7,4 – 12)	14,8 (12,4 – 17,8)	
MCV (μm ³)	86,0 (76 – 107,4)	85,8 (76 – 99,3)	
MCH (pg)	29,0 (24,1 – 34,3)	30,1 (26,6 – 31,8)	
MCHC (g/dL)	33,3 (27,2 – 38,5)	33,3 (30,2 – 37,8)	
Réticulocytes (10 ³ /μL)**	348,3 (210,1 – 681,0)	165,4 (128,9 – 329,4)	> 128 000/μL
IRF (Sysmex)***	20,1 (8,9 – 37,6)	8,3 (2,7 – 16,3)	
Ret/IRF	17,6 (7,0 – 51,6)	21,7 (16,6 – 47,7)	≥ 7,0
MicroR (%)	9,7 (2,1 – 18,5) ≥ 2,1%	2,4 (0,8 – 9,2)	
HYPO-He (%)**	1,4 (0,4 – 5,8)	0,3 (0,1 – 0,6)	
MicroR/Hypo-He*	4,6 (1,6 – 18,5)	10,1 (4,0 – 46,0) ≥ 4,0%	

*p<0.05, **p<0.01 et ***p<0.001
Médiane (range)

Résultats et Discussion (2)

“ Patients SH vs patients non-SH:

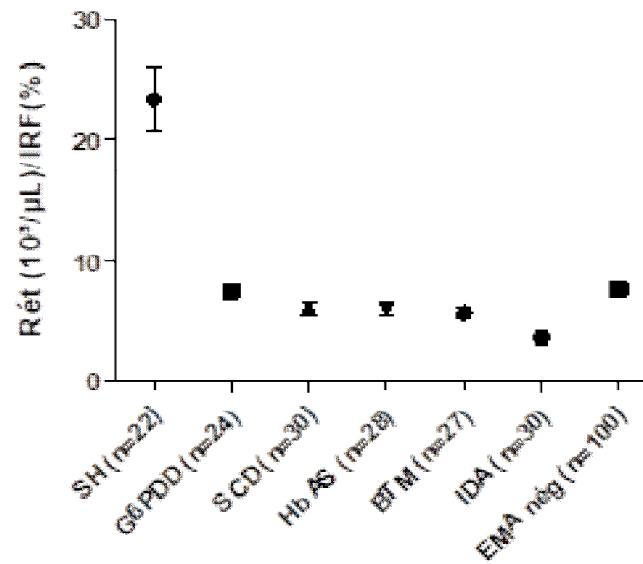
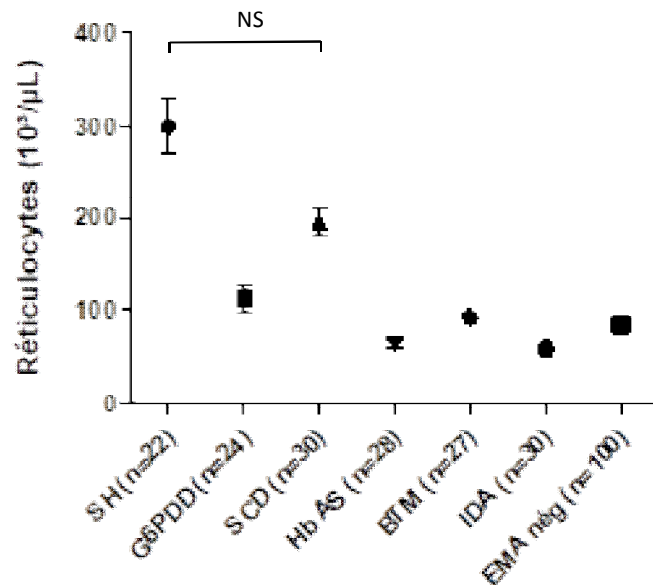


Paramètre	AUC	IC 95%	Cut-off	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Réticulocytes (10 ³ /µL)	0,95	0,92 - 0,99	> 127,1	100	87,0
Rét/IRF	0,91	0,86 - 0,97	> 6,95	100	54,5

Résultats et Discussion (3)

“ Patients SH vs Patients autres désordres hématologiques:

- “ **Taux de réticulocytes** permet de différencier la SH de tous les autres désordres hématologiques étudiés à l'exception de la drépanocytose (SCD)
- “ Seul **Rét/IRF** permet de différencier la SH de tous les autres désordres hématologiques étudiés



SH: sphérocytose héréditaire
G6PDD: déficience en G6PD
SCD: drépanocytose
HbAS: trait drépanocytaire
BTM: bêta-thalassémie mineure
IDA: carence en fer
EMA négatif: groupe contrôle non-SH

Résultats et Discussion (4)

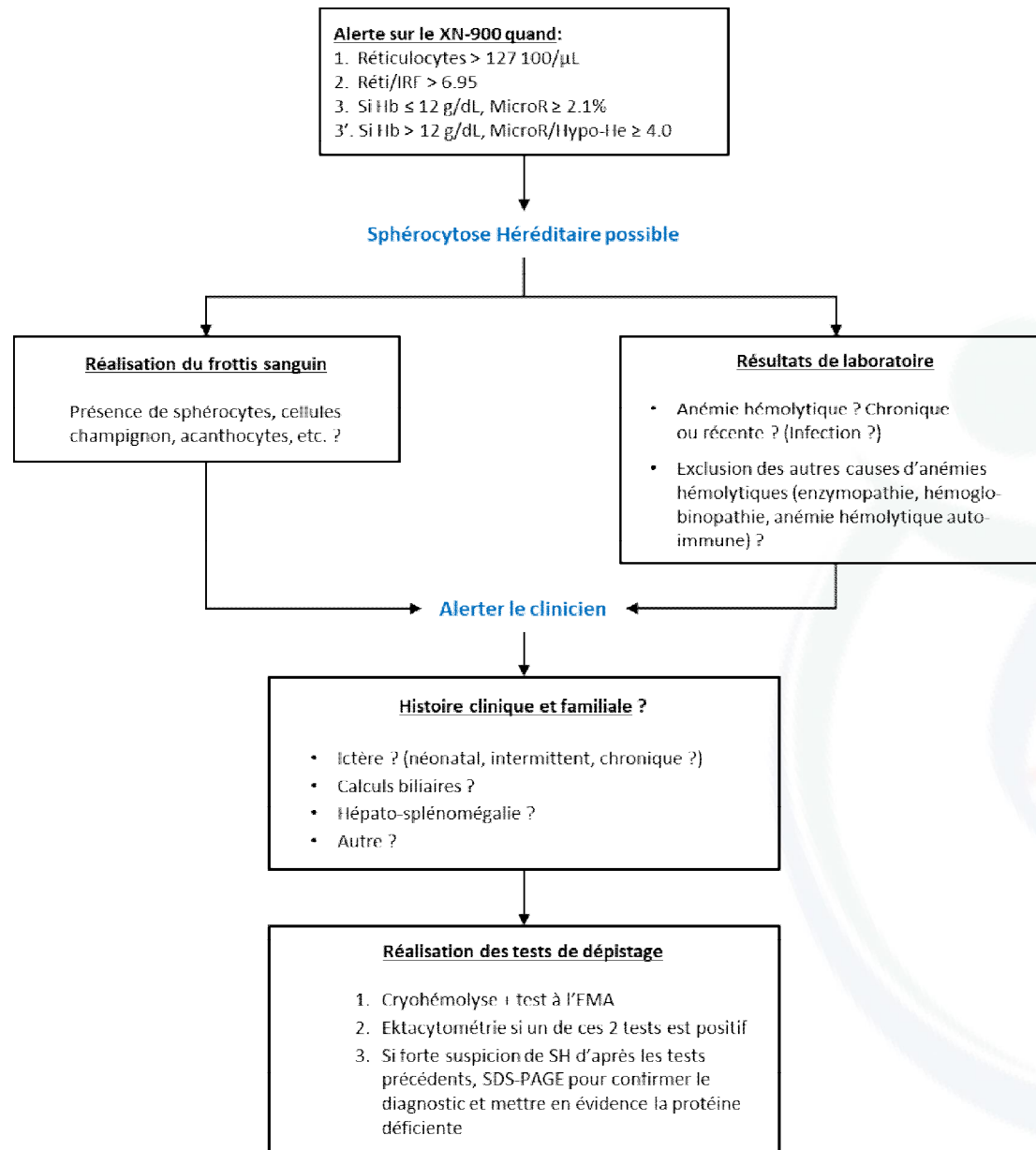
“ **Nouvelles valeurs cut-offs proposées:**

- 1. Réticulocytes > 127 100/ μ L**
- 2. Rét/IRF > 6,95**
- 3. Si Hb \leq 12 g/dL, MicroR \geq 2,1%**
- 3'. Si Hb > 12 g/dL, MicroR/Hypo-He \geq 4,0**

Sensibilité 100%
Spécificité 93,3%

⇒ **Algorithme ajouté à nos tests de 1^{ère} et 2^{nde} ligne**

⇒ **Proposition d'un nouvel algorithme de dépistage de la SH dans la population « tout-venant » du LHUB-ULB**



Résultats et Discussion (5)

“ Limitations:

- “ Efficacité de nos valeurs cut-offs à confirmer sur un panel plus large
- “ Patients splénectomisés ?

CONCLUSION

Conclusion

- “ Proposition d’un **nouvel outil de dépistage de la SH**
 - “ Rapide
 - “ Peu coûteux
 - “ Efficace

- “ **Aide dans la démarche diagnostique** pour confirmer la nécessité ou non de réaliser des tests plus lourds et plus coûteux

- “ Implémentation des valeurs cut-offs dans l’automate d’hématologie à considérer pour **augmenter le diagnostic** de cette pathologie probablement sous-estimée
 - “ Prévenir le risque de complication
 - “ Améliorer la prise en charge des patients

Merci pour votre attention

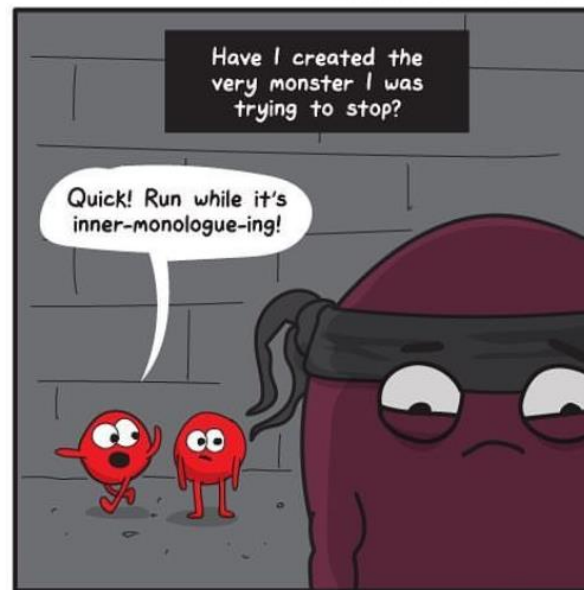
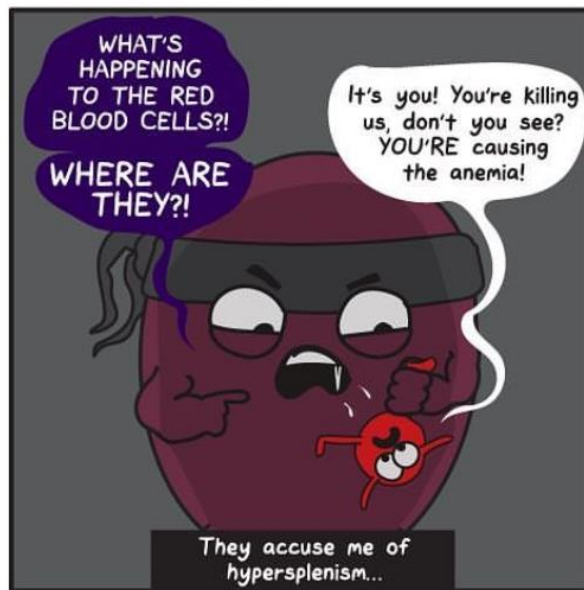




©2016 The Awkward Yeti



theAwkwardYeti.com



Automates	Paramètre intéressant	Définition	Intérêt dans la SH	Cut-off proposé dans la littérature	Sensibilité - Spécificité	Référence
Siemens (Advia 2120)	% Hyper	% de GR hyperdenses ([Hb] > 41 g/dL)	SH: ↑ du % Hyper ⇒ Perte membranaire associée à une ↑ de la perméabilité aux cations monovalents ⇒ Hyperactivité de la pompe à Na ⁺ ⇒ Perte de Na ⁺ > à l'entrée de K ⁺ ⇒ Déshydratation ⇒ Augmentation du MCHC	% Hyper > 6,4%	92% - 91%	Farias <i>et al.</i> 2015
Abbot Diagnostics (CELL-DYN Sapphire)	% HPR	% de GR hyperchromes ([Hb] > 41 g/dL)	SH: ↑ du % HPR ⇒ Perte membranaire associée à une ↑ de la perméabilité aux cations monovalents ⇒ Hyperactivité de la pompe à Na ⁺ ⇒ Perte de Na ⁺ > à l'entrée de K ⁺ ⇒ Déshydratation ⇒ Augmentation du MCHC	% HPR > 4,9%	96% - 99 %	Rooney <i>et al.</i> 2015

Automates	Paramètre intéressant	Définition	Intérêt dans la SH	Cut-off proposé dans la littérature	Sensibilité - Spécificité	Référence
Sysmex (XNs, XT-4000i, XE-5000)	IRF	Fraction réticulocytaire immature	SH: Rét/IRF ↑ ⇒ Taux de réticulocytes élevé sans élévation proportionnelle de l'IRF ⇒ Hypothèse: coloration anormale/diminuée des réticulocytes	Rét($10^3/\mu\text{L}$)/IRF > 7,7 (≥ 19 dans les formes bénignes et trait) Rét($10^3/\mu\text{L}$)/IRF > 9,1	100% - 99,3%* 100% - 92,1%*	Mullier <i>et al.</i> 2011 Bobée <i>et al.</i> 2018
	MicroR	% de GR microcytaires (MCV < 60 fL)	SH: Micro R ↑ et MicroR/Hypo-He ↑ ⇒ ↑ % de sphérocytes = cellules de plus petite taille que les GR normaux ⇒ ↑ du % de GR hyperdenses donc ↓ du % de GR hypohémoglobinisés	MicroR $\geq 3.5\%$ et MicroR/Hypo-He ≥ 2.5 (formes modérées) ou ≥ 2 (formes sévères)	100% - 99,3%*	Mullier <i>et al.</i> 2011
	Hypo-He	% de GR hypohémoglobinisés (MCH < 17 pg)		MicroR > 2.2% ou MicroR/Hypo-He ≥ 3.5 selon le taux d'Hb	100% - 92,1%*	Bobée <i>et al.</i> 2018
Beckman-Coulter (DxH800, LH755, LH780)	MSCV	Volume moyen des cellules sphérisées	SH: MSCV < MCV ⇒ Déformabilité ↓ des sphérocytes ⇒ Incapacité à ↑ leur volume en solution hypo-osmotique	(MCV-MSCV) > 9,6 fL (MCV-MSCV) > 10,4 fL (MSCV-MCV) < 0,6 fL	100% - 91%* 100% - 74%* 95% - 95%	Broseus <i>et al.</i> 2010 Lazarova <i>et al.</i> 2014 Liao <i>et al.</i> 2018
	MRV	Volume moyen réticulocytaire	SH: MRV ↓ ⇒ Perte de membrane débutant dès l'érythropoïèse	MRV < 96,72 fL MRV ≤ 95.77 fL (MRV-MSCV) < 25 fL et (MCV-MSCV) > 10 fL	100% - 88%* 87% - 91% 84% - 95% / 83% - 96%	Lazarova <i>et al.</i> 2014 Yuchan <i>et al.</i> 2016 Nair <i>et al.</i> 2015 / Arora <i>et al.</i> 2018

*performances données pour un algorithme contenant d'autres paramètres