

LE TEST DE FRAGILITÉ OSMOTIQUE PAR CYTOMÉTRIE EN FLUX : UNE RÉVOLUTION POUR LE DIAGNOSTIC DE LA SPHÉROCYTOSE HÉRÉDITAIRE

Fattouma Ben Sghaier¹, Nour Louati¹, Frikha Imene², Mdhafer Moez², Gargouri Jalel¹, Hela Menif¹, Taicir Rekik¹, Ikram Ben Amor¹
 1. CRTS Sfax, LR19SP05, Université de Sfax, Sfax, Tunisie
 2. Service d'hématologie, hôpital Hedi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie

❖ INTRODUCTION

Les recommandations actuelles concernant le diagnostic de **sphérocytose héréditaire (SH)** sont unanimes sur le fait qu'au moins deux tests de laboratoire doivent être utilisés lorsque le diagnostic est non concluant.

Récemment, le **test de fragilité osmotique (TFO) par cytométrie en flux (CMF)** a été introduit dans notre laboratoire à côté du test à l'éosine 5'maléimide (EMA) pour le dépistage de la SH.

OBJECTIF: Évaluer les performances diagnostiques du TFO par CMF pour le diagnostic de la SH.

❖ MATÉRIEL ET MÉTHODES

- Période d'étude:** 12 mois (2022-2023).
- Population d'étude:** au nombre total de 121 réparti en **29 patients avec SH**, **24 patients contrôles** avec anémie d'origines diverses et **68 témoins** (57 adultes et 11 pédiatriques).
- Etape pré-analytique:** Prélèvement sanguin périphérique (sur EDTA) avec acheminement **immédiat** au laboratoire.
- Principe:** L'eau distillée a été ajoutée à une suspension de GR dans une solution saline pendant l'acquisition. Le nombre de GR est mesuré séquentiellement en temps réel à l'aide du cytomètre **FACS Canto II® (Becton Dickinson)** avant et après l'ajout de l'eau distillée (**Figure 1**).

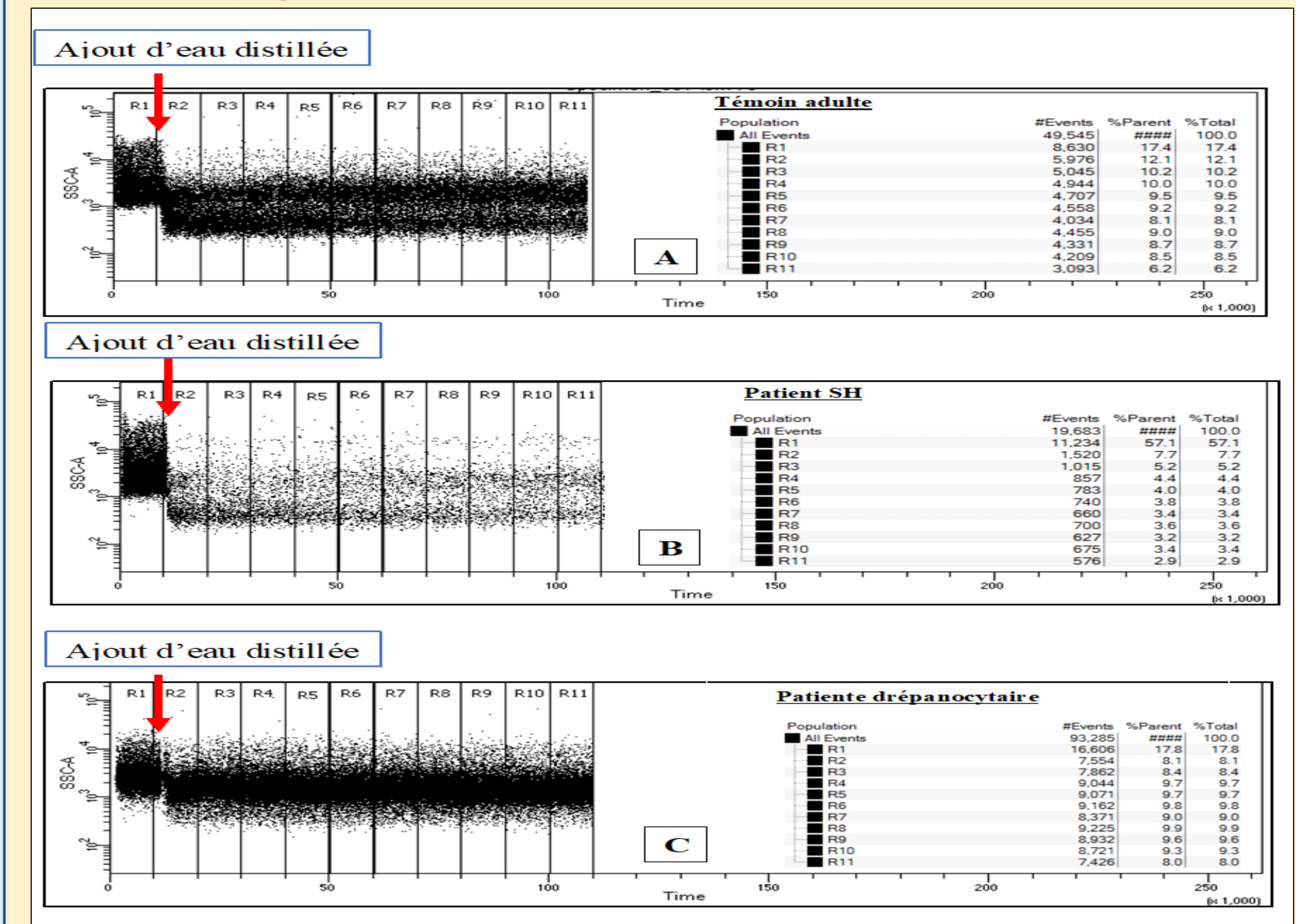


Figure 1: A. Histogramme (temps/ SSC-A) de globules rouges de **témoin** (% GR résiduels = 49,7%), B. Histogramme (temps/ SSC-A) de patient avec **sphérocytose héréditaire** (% GR résiduels = 6,2%), C. Histogramme (temps/ SSC-A) de patient avec **drépanocytose** (% GR résiduels = 52,7%).

Le **degré d'hémolyse** a été évalué à partir du pourcentage des GR résiduels en utilisant cette formule :

$$\% \text{ GR résiduels} = \frac{\text{nombre d'évènements de R6} + \text{R7}}{2 \times \text{nombre d'évènements de R1}} \times 100$$

Nous avons également calculé le **ratio de % des GR résiduels** témoins / patients :

$$\text{ratio} = \frac{\% \text{ des GR résiduels des témoins}}{\% \text{ GR résiduels des patients}}$$

❖ RÉSULTATS

Les résultats du TFO des groupes de patients (SH et contrôles) et témoins sont présentés dans le tableau I et dans la figure 2.

Tableau I: Résultats du test de fragilité osmotique par CMF

Groupes	%GR résiduels		Ratio %GR résiduels	
	Moyenne (+/- ET)	p	Moyenne (+/- ET)	p
Patients SH (n=29)	16,9±11,5	<0,0001*	4,2±3,6	<0,0001*
Patients Contrôles (n= 24)	62,5±27,5		0,7±0,3	
Témoins adultes (n= 57)	48,7±30,4		1,1±0,6	
Témoins pédiatriques (n=11)	30,9±15,49		1,6±1	

* : comparaison entre SH vs les autres groupes

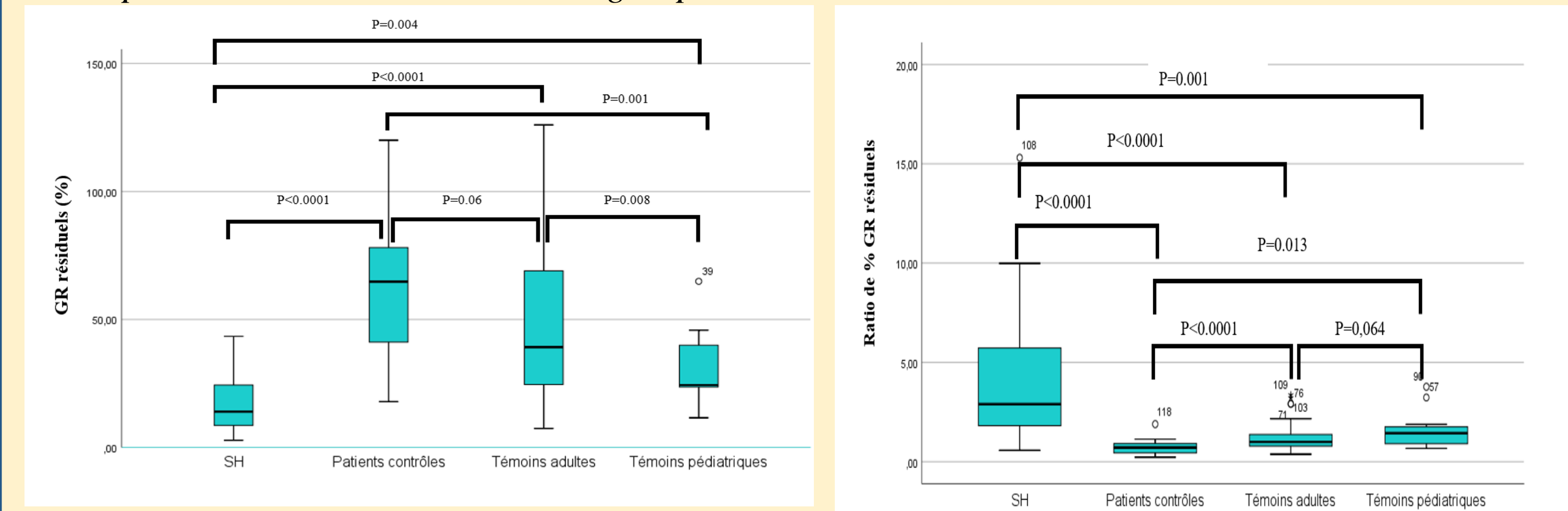


Figure 2 : Comparaison des résultats du TFO entre les groupes

Les performances diagnostiques du TFO sont résumées dans le tableau II.

Tableau II: Performances du test de fragilité osmotique par CMF

	%GR résiduels	Ratio de %GR résiduels
Valeur Seuil	28,29	1,73
ASC	0,865	0,884
Sensibilité (%)	86,2	82,8
Spécificité (%)	71,7	86,9
VPP (%)	49	66,6
VPN (%)	94	94,1

❖ DISCUSSION ET CONCLUSION

Le **couple sensibilité/ spécificité** retrouvé dans la littérature variait de 85,71% à 100% pour la sensibilité et de 84,6 à 98,63% pour la spécificité.

L'utilisation du **ratio de % de GR résiduels** dans notre étude a amélioré la spécificité du test TFO qui a passé de 71,7 % à 86,9 %. Ceci a été également observée dans l'étude de Shim et al. (2014), où la spécificité a haussé de 87,5 % à 95,8 %.

La sensibilité, la spécificité, l'ASC et la VPN de notre test sont acceptables. Néanmoins, la diminution de la VPP peut s'expliquer par la faible prévalence de la maladie (0,02% dans les populations caucasiennes), ce qui rend ce test presque parfait pour exclure la SH, mais un mauvais test pour la confirmation.

➔ le TFO par CMF peut être ainsi une alternative du test de résistance osmotique classique pour dépister la SH.

En effet, le TFO par CMF offre plusieurs **avantages** : il est rapide, économique, quantitatif, objectif, rentable et ne nécessitant pas de pré-incubation.

➔ Une étude plus large évaluant les performances diagnostiques à la fois du TFO et du test à l'EMA s'avère toutefois nécessaire dans notre laboratoire.