

Aspect cytologique normal et pathologique du sang chez le nouveau-né et le jeune enfant

O. Fenneteau
M.-F. Hurtaud-Roux
N. Schlegel

Service d'hématologie biologique,
Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris
<odile.fenneteau@rdb.aphp.fr>

Résumé. La majorité des pathologies héréditaires associées à des modifications morphologiques des populations cellulaires sanguines sont de révélation précoce. Nous envisagerons successivement les particularités physiologiques des cellules sanguines, puis leurs aspects pathologiques sur frottis sanguins colorés au May-Grünwald-Giemsa au cours des maladies hématologiques héréditaires et acquises du nouveau-né et du jeune enfant.

Mots clés : *nouveau-né, sang, microscopie optique, morphologie cellulaire sanguine, hématie, leucocyte, plaquette, maladie de surcharge lysosomale, erreur innée du métabolisme*

Abstract. Morphological alterations of blood cells are observed early in most hereditary disorders. Therefore, the cytological study of the blood cells is a must for the diagnosis of these disorders in neonates and children. Knowledge of the quantitative and qualitative physiological peculiarities of blood cells in neonates is mandatory for an accurate interpretation. In the present article, the main cytological characteristics of blood cells in healthy neonates and infants and their abnormalities associated with hereditary or acquired blood disorders are reviewed.

Key words: *newborn, blood, microscopic analysis, peripheral blood morphological analysis, red blood cells, leukocyte, platelet, lysosomal storage diseases, metabolism inborn error*

Article reçu le 25 octobre 2005,
accepté le 15 novembre 2005

L'hématologie pédiatrique requiert une connaissance des particularités de l'hématopoïèse du nouveau-né et de l'enfant, ainsi que des maladies héréditaires qui s'accompagnent de manifestations hématologiques.

En raison d'importantes différences par rapport à l'adulte, l'interprétation correcte des données de l'hémogramme en pédiatrie doit tenir compte des variations physiologiques des différents paramètres et des particularités cytologiques en fonction de l'âge et du degré de prématurité [1].

La majorité des maladies héréditaires qui entraînent une modification morphologique des cellules sanguines ont une révélation néonatale ou dans l'enfance. Une attention particulière doit donc être apportée à l'étude cytologique des populations cellulaires sanguines lors des premières années de vie. Nous aborderons successivement la morphologie normale et pathologique des hématies, des leucocytes et des plaquettes sur frottis sanguins colorés au May-Grünwald-Giemsa (MGG).

Tirés à part : O. Fenneteau

Morphologie des hématies

Aspects physiologiques

Les hématies du nouveau-né sont **macrocytaires** avec un volume globulaire moyen (VGM) situé entre 98 et 125 fl, voire plus pour les prématurés. Plusieurs mécanismes pourraient rendre compte de cette macrocytose physiologique : d'une part, l'érythropoïèse de stress lors de la naissance et, d'autre part, la composition plus riche en lipides de la membrane érythrocytaire néonatale. **À partir de la troisième ou de la quatrième semaine, le VGM diminue progressivement pour atteindre un minimum aux alentours de 75 fl au sixième mois de vie.**

L'observation du frottis sanguin du nouveau-né révèle quelques particularités (*figure 1A*). Ainsi, on note la présence de :

- **rare corps de Jolly (témoin d'une asplénie fonctionnelle physiologique transitoire) ;**
- quelques pyknocytes : ce sont des hématies aux contours irréguliers avec de rares projections courtes. Chez le

revue générale

nouveau-né à terme, on peut trouver 2 % environ de pyknocytes ; leur taux est plus élevé chez le prématuré (jusqu'à 6 %). Leur présence diminue progressivement pour disparaître après 6 mois. La présence de nombreux pyknocytes désignée sous le terme de pyknocytose infantile, s'accompagne d'une anémie spontanément résolutive en quelques semaines [2] ;

- rares sphérocytes (< 1 %) ;
- quelques échinocytes et acanthocytes ;
- rares hématies cibles ;
- des hématies polychromatophiles (hématies de taille augmentée et colorées en gris bleu au MGG). Elles correspondent à des jeunes hématies contenant des résidus d'ARN (réticulocytes). Chez le nouveau-né à terme le

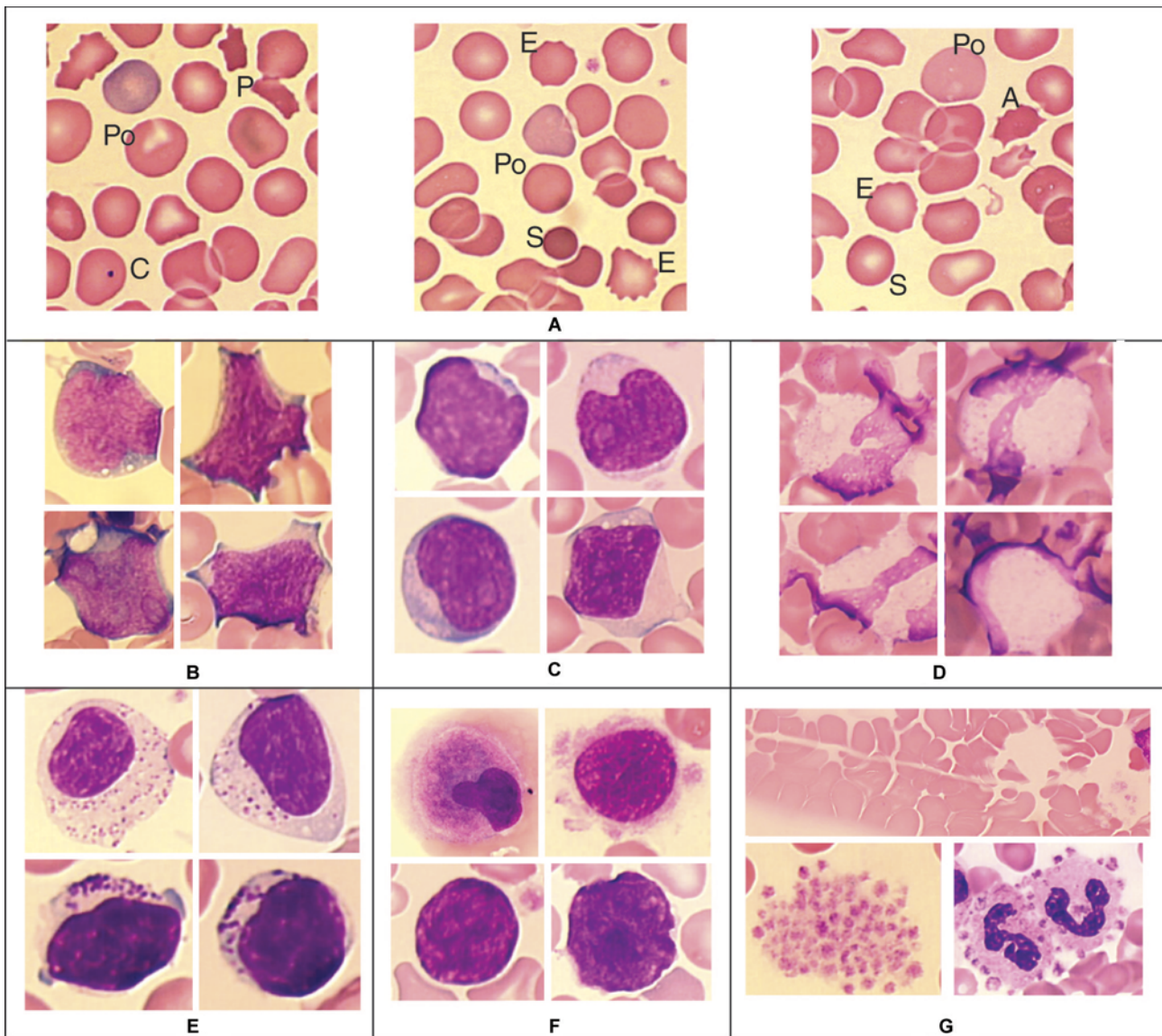


Figure 1. Particularités rencontrées à l'observation de frottis sanguins de nouveau-nés et d'enfants. **A** : présence de rares **pyknocytes** (P), de rares **sphérocytes** (S), **rars corps de jolly** (C), **rars échinocytes** (E) et **rars acanthocytes** (A), **polychromatophilie** (Po) chez un nouveau-né ; **B** : présence de cellules souches (blastes indifférenciés) chez un prématuré ; **C** : exemples de lymphocytes ; **D** : fragilité cellulaire : frottis sanguin de nouveau-né : les lobes des polynucléaires sont étirés et se disposent sur le pourtour cellulaire, les granulations sont déversées hors de la cellule ; **E** : lymphocytes à grains normaux (lymphocytose réactionnelle). En haut, à ne pas confondre avec les lymphocytes de Gasser. En bas, à ne pas confondre avec les lymphocytes à granulations anormales ; **F** : présence de micromégacaryocytes et de noyaux nus de mégacaryocytes (nouveau-né prématuré) ; **G** : fausses thrombopénies : en haut, réseau de fibrine et amas de plaquettes. En bas à gauche, agglutination des plaquettes à l'EDTA ; à droite, satellitisme des plaquettes aux leucocytes.

taux de réticulocytes est de 200 à 300 G/L, il diminue rapidement pendant la première semaine et reste ensuite comparable à celui de l'adulte.

Aspects pathologiques

Les différentes anomalies morphologiques des hématies peuvent être répertoriées selon qu'elles affectent leur taille, leur teinte, leur forme ou leur contenu (présence d'inclusions érythrocytaires). Une même pathologie regroupe le plus souvent plusieurs anomalies morphologiques du globule rouge. Certaines anomalies morphologiques identiques peuvent se retrouver au cours de pathologies constitutionnelles et acquises.

Différentes pathologies acquises peuvent s'associer (carence en folates et en fer), perturbant les constantes de l'hémogramme et la morphologie des hématies.

Différentes pathologies constitutionnelles de la membrane, de l'hémoglobine, des enzymes peuvent s'associer diversement entre elles. Une pathologie héréditaire peut être associée à une pathologie acquise (carence en folates ou en fer, microangiopathie, insuffisance hépatique...). La morphologie des hématies peut s'en trouver modifiée. Ainsi, chez un enfant porteur d'une sphérocytose héréditaire, la carence en fer masque la présence de sphérocytes par l'hypochromie qu'elle entraîne.

Anomalies de taille

Microcytose

La microcytose est définie par la présence d'hématies de taille et de VGM diminués. Elle résulte en général d'un défaut de synthèse de l'hémoglobine et s'associe à l'hypochromie (hématies de teinte pâle) quand l'anomalie porte sur un défaut de synthèse des chaînes de globine ou sur un défaut de synthèse de l'hème (carence en fer, déficit en enzymes intervenant dans la synthèse de l'hème).

Chez le jeune enfant, la carence martiale est la première cause d'anémie microcytaire hypochrome. Les facteurs socio-économiques et culturels ont un impact certain sur le type d'alimentation et un retard à la diversification alimentaire peut être un facteur favorisant la carence martiale.

Les nouveau-nés atteints d'alpha-thalassémie mineure présentent à la naissance une microcytose avec un VGM < 95 fl, sans anémie, et quelques hématies cibles (*figure 2A*). Le diagnostic est confirmé par la présence d'hémoglobine Bart durant les premières semaines de vie. La délétion des 4 gènes alpha, répandue en Asie, entraîne la mort *in utero* ou dans les premières semaines de vie, dans un tableau d'anasarque fœtoplacentaire (hydrops fœtalis) [3]. L'anémie microcytaire est sévère, accompagnée de nombreuses hématies cibles et d'un fort pourcentage d'érythroblastes (*figure 2B*).

L'anémie sidéroblastique congénitale est liée à une mutation du gène de l'Ala synthétase, localisé au niveau du chromosome X. L'Ala synthétase intervient dans les premières étapes de la synthèse de l'hème [4]. L'anémie est sévère, hypochrome, microcytaire, arégénérative, d'apparition précoce. Chez les filles porteuses de la maladie, on retrouve une double population érythrocytaire (l'une microcytaire hypochrome, l'autre normocytaire) (*figure 2C*). Le myélogramme révèle une moelle riche, une hyperplasie érythroïde, des érythroblastes matures au cytoplasme effiloché avec des plages transparentes traduisant le défaut d'hémoglobinisation (*figure 2D*). La coloration de Perls permet de mettre en évidence le pourcentage élevé de sidéroblastes en couronne (*figure 2D*).

Macrocytose

La macrocytose est caractérisée par des hématies de taille augmentée. Les macrocytes sont la conséquence d'une anomalie de synthèse de l'ADN, soit par carence ou pathologie congénitale des folates ou de la vitamine B12, soit par anomalies constitutionnelles du métabolisme nucléaire.

La carence en vitamine B12 chez le nouveau-né est rarissime et n'est retrouvée que dans les cas où la mère est exclusivement végétarienne. Les pathologies congénitales de la vitamine B12 et des folates se révèlent en général tôt dans la vie. Le VGM étant élevé de façon physiologique chez le nouveau-né, seule la présence d'hématies de taille anormalement augmentée attire l'attention, ainsi que la dysérythropoièse quand il existe des érythroblastes circulants (*figure 2E*). De plus, au cours des troubles héréditaires du métabolisme de la vitamine B12 et des folates [5], le VGM peut ne pas refléter la macrocytose car s'y associent de nombreuses hématies fragmentées (*figure 2F*). L'anémie dans ces pathologies est sévère et s'accompagne d'autres cytopénies (thrombopénie, neutropénie).

Le déficit rarissime en UMP synthétase, responsable de l'acidurie orotique [6] s'accompagne d'une anémie macrocytaire avec une très forte anisocytose et l'association de microcytes, de macrocytes et de macrocytes hypochromes (*figure 2G*). Le myélogramme révèle une macroblastose marquée.

La dysérythropoièse congénitale de type I [7], se révèle souvent précocement dans l'enfance (quelques cas ont même nécessité des transfusions *in utero*), l'anémie est macrocytaire. Des macrocytes, des dacryocytes et des elliptocytes sont retrouvés sur le frottis sanguin (*figure 2H*). Le myélogramme est très évocateur, la moelle est riche avec hyperplasie érythroïde. Les anomalies touchent les stades les plus matures avec des érythroblastes de grande taille au noyau bilobé, des érythroblastes à deux noyaux souvent de taille et de structure différentes. La

présence en nombre anormal de ponts chromatiniens entre deux noyaux d'érythroblastes distincts est très évocatrice de cette pathologie (figure 2I).

Anomalies de forme

L'hématie à l'état normal a une forme discoïde. Différentes anomalies constitutives de l'hémoglobine, de la membrane, des enzymes érythrocytaires peuvent entraîner une modification de la forme du globule rouge. Ces anomalies de forme peuvent être évocatrices d'une pathologie constitutionnelle du globule rouge mais la plupart s'observent

également dans des pathologies acquises diverses. Le terme de poikilocytose indique la présence sur les frottis d'hématies de formes différentes.

Nous allons passer en revue les différentes anomalies de forme caractéristique avec leur dénomination propre, en précisant les pathologies constitutionnelles et acquises qui leur sont associées.

Échinocytes et acanthocytes

Les **échinocytes** sont des hématies dont la surface possède plusieurs **spicules courts et réguliers**. Les acanthocytes

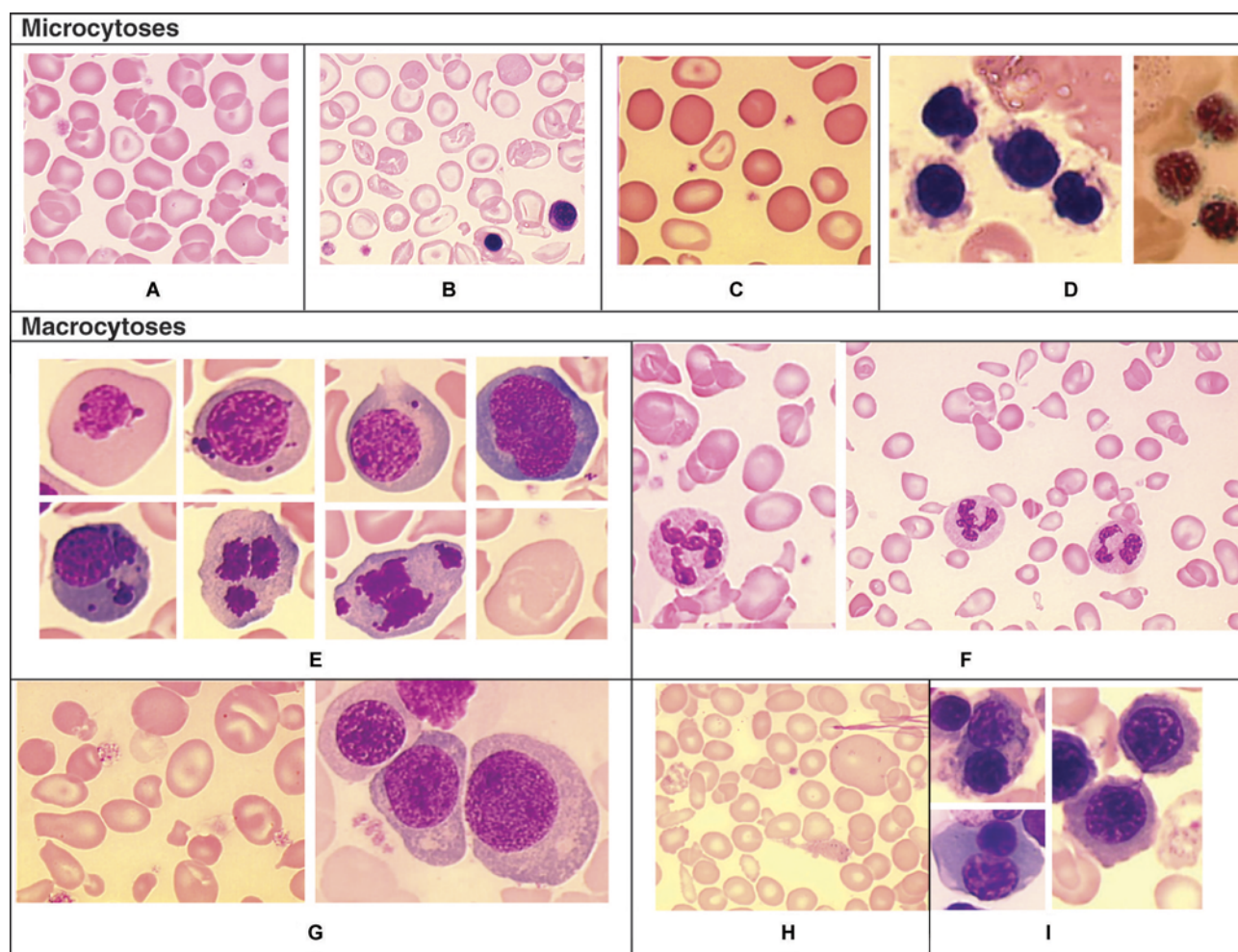


Figure 2. Anomalies de taille des hématies. *Microcytoses* : **A** : alphathalassémie mineure (nouveau-né). VGM : 86 fl, présence d'hématies cibles en nombre augmenté ; **B** : Hydrops fœtal (hypochromie, nombreuses hématies cibles, nombreux érythroblastes) ; **C** : déficit en Ala synthétase (fille hétérozygote). Double population, l'une hypochrome et microcytaire, l'autre normochrome et normocytaire ; **D** : déficit en Ala synthétase : frottis médullaire : à gauche, érythroblastes acidophiles au cytoplasme effiloché, transparent ; à droite, sidéroblastes en couronne (coloration de Perls). *Macrocytoses* : **E** : anomalie congénitale de la vitamine B12 (nouveau-né) : érythroblastes dysmorphiques avec mégalo-blastose, mitoses anormales, macrocyte (en bas à droite) ; **F** : anomalie congénitale de la vitamine B12 : présence de macrocytes et également d'hématies fragmentées, polynucléaires plurisegmentés ; **G** : acidurie orotique : à gauche : forte anisocytose, association de microcytes et macrocytes dont certains sont hypochromes ; à droite frottis médullaire : macroblastose ; **H** : dysérythropoïèse congénitale de type 1 : macrocytes, dacryocytes et elliptocytes ; **I** : dysérythropoïèse congénitale de type 1 (frottis médullaire) : à gauche : érythroblastes à 2 noyaux de structure différente, à droite : pont inter chromatiniens.

sont des hématies qui présentent quelques **spicules irrégulièrement disposés** à la surface de la cellule. **Les échinocytes apparaissent uniformément crénelés**, alors que les acanthocytes apparaissent plus denses et contractés sur le frottis coloré au MGG.

La distinction entre ces deux types d'hématies crénelées est parfois difficile sur un frottis coloré au MGG, mais devient aisée en regardant les hématies à l'état frais en contraste de phase. La déformation en échinocyte peut être artéfactuelle, due à une trop longue conservation du sang avant la confection du frottis (*figure 3A*). Les échinocytes et acanthocytes se retrouvent en petit nombre chez le nouveau-né, leur nombre augmente avec le degré de prématurité en raison d'une carence en vitamine E, qui représente un protecteur de la membrane vis-à-vis des agents oxydants (*figure 3B*). Les échinocytes sont décelés dans le déficit en pyruvate kinase, associés à de rares acanthocytes. Après splénectomie et au cours d'autres déficits en enzymes de la glycolyse érythrocytaire (triose phosphate isomérase, phosphoglycérate kinase...), ce sont surtout des hématies denses spiculées (*figure 3C*) qui sont décrites. Des échinocytes sont décelés également au cours de nombreuses pathologies acquises (asplénie, gastro-entérites, brûlures...) (*figure 3D*).

La présence d'acanthocytes n'est jamais artéfactuelle [8]. Au cours de l'abétalipoprotéïnémie [9], maladie métabolique héréditaire rare, de révélation précoce, plus de 50 % des hématies sont des acanthocytes (*figure 3E*). **La recherche d'acanthocytes est un marqueur biologique important pour le diagnostic de différentes pathologies neurodégénératives** (maladie d'Hallervorden-Spatz, neuroacanthocytose) [10] (*figure 3F*). Des anomalies de groupes sanguins (phénotypes McLeod et Lutheran In (Lu)) s'accompagnent d'acanthocytes. Les acanthocytes sont également observés au cours de certaines pathologies acquises (insuffisance hépatocellulaire sévère, hypoplasie splénique fonctionnelle et anatomique, anorexie...).

Hématies cibles

Les hématies cibles ont un **centre coloré entouré d'une zone claire, elle-même bordée par une zone colorée**. Les cellules cibles résultent d'une augmentation du rapport surface/volume de l'érythrocyte, conséquence soit d'une diminution de la quantité d'hémoglobine (anémie ferriprive, thalassémie, hémoglobinose E) (*figure 3G*), soit de l'augmentation de la surface de la membrane (déficit en lécithine cholestérol acétyl transférase (LCTA)), soit d'une diminution du volume sans diminution de surface (hémoglobinose C) (*figure 3H*).

Au cours des **thalassémies**, les hématies cibles sont présentes dès la naissance pour les patients atteints d'**alpha-thalassémie**. Pour les patients atteints de **bêta-thalassémie homozygote** [11], d'**hémoglobinose E** et d'**hémoglobinose C**, l'apparition de l'anémie et des anomalies des hématies

a lieu après les premiers mois de vie quand la synthèse des chaînes γ globines est remplacée progressivement par la synthèse de la chaîne β globine.

Les hématies cibles sont également retrouvées dans les pathologies autres que celles de l'hémoglobine et notamment les déficits héréditaires ou acquis (obstructions biliaires) en LCTA (*figure 3I*).

Dacryocytes

Les dacryocytes sont des hématies avec un prolongement effilé (hématie en larme, hématie en poire). Les dacryocytes sont observés au cours des thalassémies (*figure 3J*) (en association avec d'autres anomalies : hypochromie, microcytose, hématies cibles, hématies ponctuées...). Ils sont également retrouvés chez l'enfant, lors des rares cas de **fibrose médullaire**, telle l'ostéopétrose (maladie d'Albers-Schönberg), pathologie rare de l'ostéoclaste qui se traduit par un comblement des espaces médullaires. À la pancytopenie s'associent des dacryocytes, une érythromyélie [12].

Drépanocytes

Les drépanocytes sont des hématies en forme de faucille avec prolongement effilé aux extrémités.

Cette déformation est la conséquence de la polymérisation des molécules d'hémoglobine S (HbS) sous forme de longues fibres en milieu désoxygéné.

On les retrouve chez les patients drépanocytaires homozygotes [13] où le pourcentage est variable, parfois élevé. Chez les patients S/C, les drépanocytes sont rares, associés à de nombreuses hématies cibles. Chez les patients S/ β thalassémiques, les drépanocytes sont associés à des hématies cibles, des microcytes et une hypochromie.

À la naissance, les drépanocytaires homozygotes ont un hémogramme normal. L'apparition de l'anémie vers le deuxième ou le troisième mois de vie suit la décroissance de l'hémoglobine F et l'apparition concomitante de l'HbS. Les frottis sanguins, à ce stade, révèlent la présence d'hématies cibles et une nette polychromatophilie. Les anomalies érythrocytaires vont apparaître progressivement : drépanocytes qui seront majorés lors des crises vaso-occlusives (*figure 3K*), corps de Jolly traduisant l'asplénie fonctionnelle.

Elliptocytes

La présence d'elliptocytes (jusqu'à 10-20 %) peut s'observer dans différentes anémies, notamment dans les **thalassémies**, ainsi que dans les **anémies ferriprives** et les **anémies mégalo-blastiques**.

L'examen des frottis de sang des patients atteints d'elliptocytose héréditaire met en évidence des globules rouges elliptiques, à un taux généralement supérieur à 30 % et pouvant aller jusqu'à 100 %. Il existe tous les intermédiaires entre des cellules discrètement ovalaires et des cellules

très allongées en forme de bâtonnet (*figure 3L*). L'elliptocytose constitutionnelle est de transmission autosomale dominante, sa fréquence dans certaines régions d'Afrique équatoriale peut atteindre 1% de la population. Les formes asymptomatiques sont les plus fréquentes, leur découverte

est fortuite sur frottis sanguins avec plus de 30 % d'elliptocytes sans poïkilocytose associée. Dans environ 15 % des cas, il existe une anémie hémolytique chronique modérée, avec, à côté des elliptocytes, une poïkilocytose peu marquée faite d'hématies fragmentées (*figure 3M*).

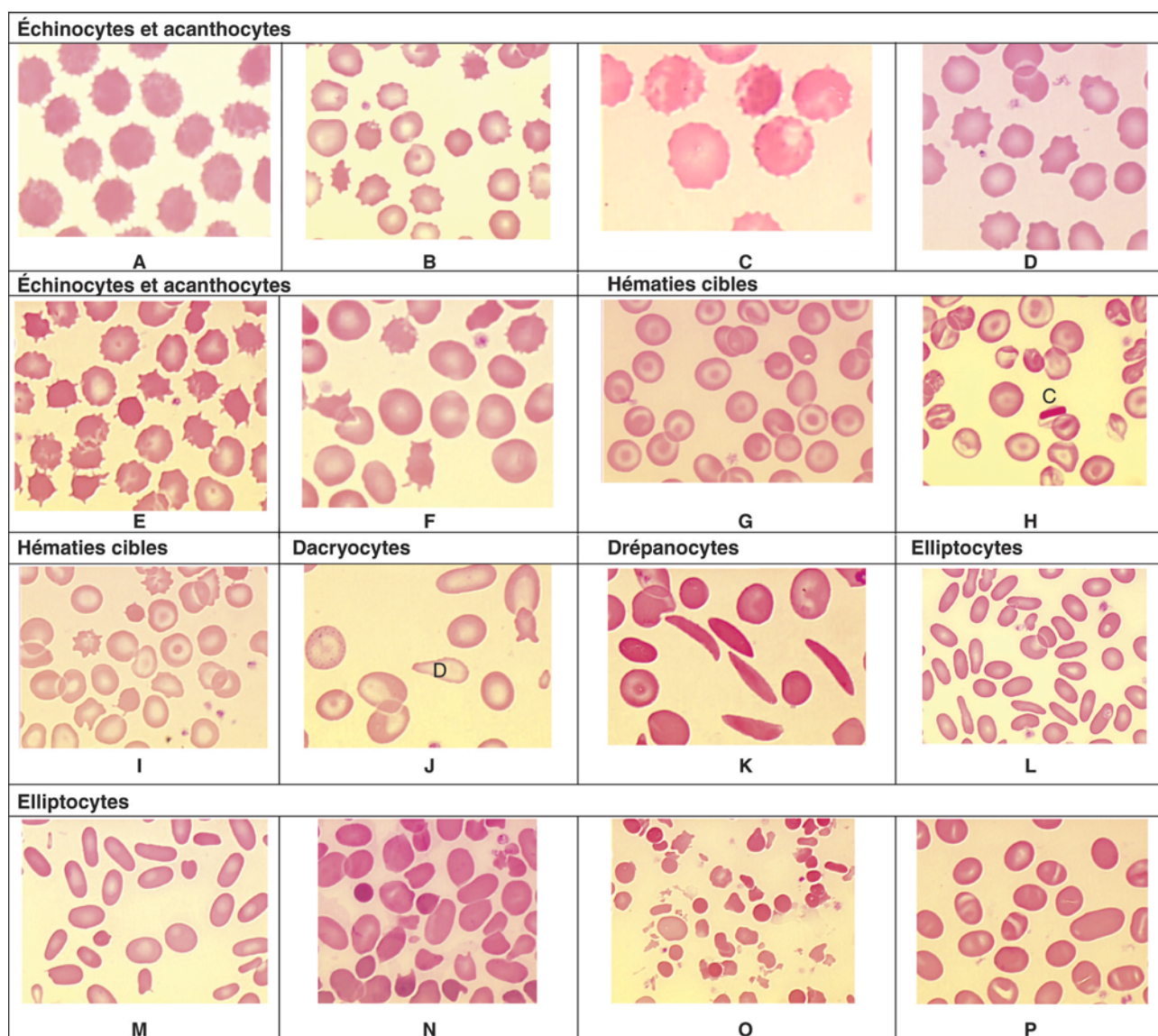


Figure 3. Anomalies de forme des hématies. **A** : artefact, nombreux échinocytes ; **B** : assez nombreux échinocytes et acanthocytes chez un nouveau-né prématuré ; **C** : déficit en phosphoglycérate kinase : présence d'échinocytes et d'hématies denses spiculées ; **D** : échinocytes chez un jeune enfant souffrant d'une gastroentérite ; **E** : abétalipoprotéïnémie : nombreux acanthocytes ; **F** : neuroacanthocytose ; **G** : hémoglobinosose E : nombreuses hématies cibles régulières ; **H** : hémoglobinosose C : nombreuses hématies cibles, certaines sont déformées par les cristaux d'hémoglobine C (C) ; **I** : présence d'hématies cibles et acanthocytes chez un patient souffrant d'obstruction biliaire ; **J** : hémoglobinosose H : dacryocytes (D), hématies cibles, microcytes, hypochromie, hématies ponctuées, elliptocytes ; **K** : nombreux drépanocytes chez un enfant drépanocytaire lors d'une crise vaso-occlusive ; **L** : elliptocytose (forme asymptomatique) : cellules légèrement ovalaire, nettement ovalaire, elliptique et bacilliforme, sans fragmentation ; **M** : elliptocytose avec anémie hémolytique modérée : présence à côté des elliptocytes, de rares hématies fragmentées ; **N** : elliptocytose avec des sphérocytes en petit nombre et des hématies fragmentées chez un nouveau-né avec ictère néonatal ; **O** : pyropoïkilocytose héréditaire : nombreux sphérocytes, rares elliptocytes et fragmentation majeure ; **P** : ovalocytose mélanésienne : présence de macro-ovalocytes et d'ovalocytes avec une ou deux raies claires transversales.

Le degré de fragmentation des hématies est le meilleur indicateur de sévérité de l'anémie hémolytique [14]. On distingue trois formes rares d'elliptocytose sévère [15] :

1) *la poikilocytose sévère transitoire de la première année de vie* qui est révélée par un ictère néonatal. Sur le frottis sanguin, on observe des hématies fragmentées, des elliptocytes et des sphérocytes en petit nombre (*figure 3N*). Cette forme grave est transitoire. Vers l'âge de 1 an, l'hémolyse et la fragmentation diminuent ;

2) *les rares patients homozygotes pour un déficit en protéine 4.1* qui ont une anémie hémolytique sévère avec à côté des elliptocytes, une fragmentation marquée des hématies et des sphérocytes ;

3) *la forme la plus sévère est la pyropoikilocytose héréditaire*. De découverte néonatale, la poikilocytose est extrême avec de nombreuses hématies fragmentées de forme variée, notamment triangulaire, de nombreux sphérocytes et de rares elliptocytes (*figure 3O*).

Il existe une autre pathologie membranaire héréditaire avec déformation elliptique des hématies : l'ovalocytose mélanésienne. La présence de macro-ovalocytes et d'ovalocytes avec une ou deux raies claires transversales (ovalostomatocytes) est très évocatrice (*figure 3P*). L'ovalocytose mélanésienne se rencontre essentiellement dans le Sud-Est Asiatique, en Mélanésie et plus particulièrement en zone d'endémie palustre [16]. Les quelques cas rencontrés en France sont de découverte fortuite lors de l'examen du frottis sanguin. L'ovalocytose mélanésienne est asymptomatique à l'état hétérozygote. De transmission dominante, on ne connaît pas de forme homozygote. Elle serait létale *in utero*.

Schizocytes

Les schizocytes sont des hématies fracturées de façon accidentelle, soit lors du passage à travers des microthrombi (anémies hémolytiques microangiopathiques), soit contre un obstacle (pathologie valvulaire, cancer métastasé) [17].

Chez l'enfant, les schizocytes se rencontrent essentiellement au cours du syndrome hémolytique et urémique (SHU) associant anémie, thrombopénie et insuffisance rénale. Quatre-vingt-dix pour cent des cas de SHU chez l'enfant sont post-diarrhéiques et surviennent surtout chez des enfants de moins de trois ans. Ils sont associés à une infection à *Escherichia Coli* sécrétant de vérotoxines dans 85 % des cas (*figure 4A*) [18]. Il ne faut pas méconnaître les rares cas de SHU « atypiques » (*figure 4B*) plus sévères, de révélation souvent néonatale, évoluant par poussées et liés à un déficit constitutionnel en protéase du facteur Willebrand dénommée ADAMTS-13 [19]. D'autres cas de SHU « atypiques » sont associés à un taux bas de C3, isolé ou secondaire à un déficit en facteur H [20].

Dans la majorité des cas de mutants Cbl C (anomalie intracellulaire des cobalamines), les signes cliniques apparaissent tôt dans la vie et associent léthargie, anorexie, retard de développement. L'anémie est macrocytaire, parfois associée à une thrombopénie. Un tableau de SHU peut se surajouter, l'anémie sévère est arégénérative et les polynucléaires ont un noyau plurisegmenté ou rubané ce qui permet de le distinguer des autres tableaux de SHU néonataux [21].

Chez le nouveau-né et le nourrisson, l'appréciation des schizocytes peut être délicate, les pyknocytes étant proches morphologiquement (*figure 4 C et D*).

Hématies fantômes (*ghosts*) et hémighosts

Les hématies fantômes (*ghosts*) (*figure 4E*) sont des hématies qui sont dépourvues de leur contenu en hémoglobine. Les hématies partiellement vidées de leur substance sont appelées hémighosts. Ces cellules ont une partie intacte dense, l'autre claire avec une bordure irrégulière comme arrachée.

Cette anomalie s'observe chez les patients déficitaires en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) en crise hémolytique sévère après ingestion de molécules oxydantes [22]. Au cours des hémoglobinopathies, des hémighosts peuvent être observés mais la partie claire de l'hémighost a une bordure intacte (*figure 4F*).

Hématies mordues (*bite cells*)

Ce sont des hématies déformées, amputées d'une portion semi-circulaire, *bite cells* selon le terme anglo-saxon, résultant de l'action épuratrice par la rate des corps de Heinz. Ces cellules sont évocatrices de déficits enzymatiques du shunt des pentoses, notamment de G6PD. En l'absence de glutathion réduit, les peroxydes cellulaires ne sont plus éliminés, l'hémoglobine et d'autres protéines subissent alors une dénaturation oxydative et précipitent sous forme de corps de Heinz.

On les retrouve également dans les hémoglobines instables (principalement l'hémoglobine Köln). En cas d'hémoglobine instable, la numération doit être réalisée le plus rapidement possible après le prélèvement, car la précipitation des hémoglobines instables fausse certains paramètres érythrocytaires, dont le taux d'hémoglobine (sous-estimé). Le meilleur moyen de déterminer le degré de l'anémie en cas d'hémoglobine instable est la mesure de l'hématocrite. La présence sur le frottis de rares sphérocytes, de quelques hématies mordues (*figure 4 G et H*), de quelques hématies cibles et d'hématies ponctuées permet d'orienter le diagnostic qui sera confirmé par l'étude de l'hémoglobine [23].

Sphérocytes

Les sphérocytes sont des hématies à diamètre réduit ne possédant pas de zone claire centrale. Ils sont uniformément colorés et apparaissent hyperchromes.

revue générale

Habituellement nombreux sur les frottis sanguins de patients atteints de sphérocytose héréditaire (maladie de Minkowski-Chauffard), ils peuvent être en nombre très réduit dans les formes atténuées. La sphérocytose héréditaire est la plus répandue des anomalies de la membrane érythrocytaire [24, 25]. L'ictère

néonatal est présent dans 60 à 70 % des cas. En période néonatale, il est difficile de différencier la sphérocytose héréditaire (figure 4I) et l'incompatibilité ABO où le pourcentage de sphérocytes peut aussi être important (figure 4J). Le test de Coombs érythrocytaire est alors discriminant.

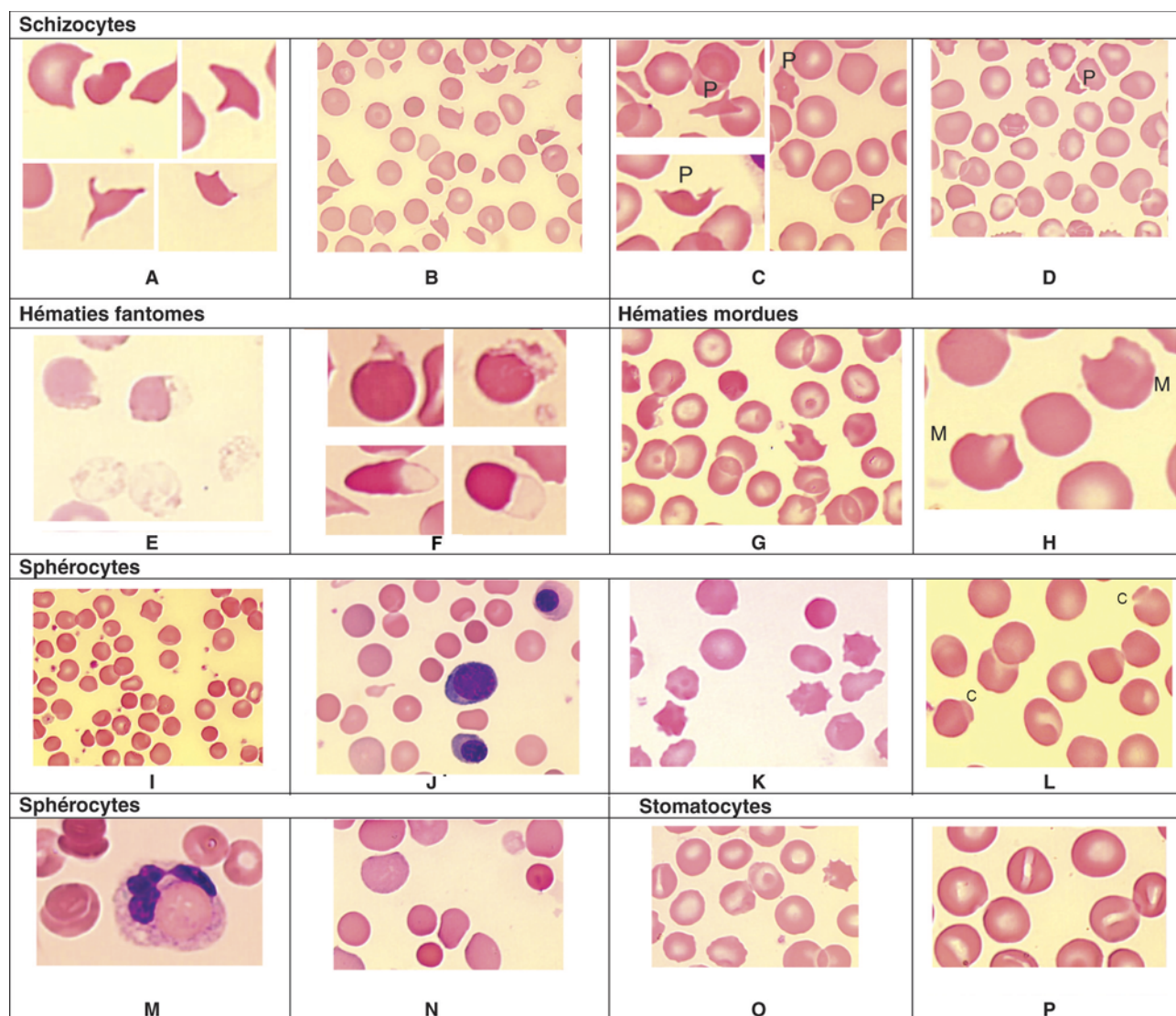


Figure 4. Anomalies de forme des hématies (suite). **A** : frottis sanguin d'un enfant atteint de SHU post diarrhéique (nombreux schizocytes) ; **B** : nouveau-né atteint de déficit en ADAMTS13 avec un SHU : présence de sphérocytes et de schizocytes ; **C** et **D** : présence de pyknocytes (P), hématies aux contours irréguliers avec de rares projections courtes, de distinction morphologique parfois délicate avec des schizocytes chez le nouveau-né ; **E** : déficit en G6PD avec stress oxydatif sévère : nombreuses hématies fantômes et hémighosts ; **F** : hémighosts. En haut : hémighosts à bordure arrachée (déficit en G6PD) ; en bas : hémighosts à bordure intacte (hémoglobinopathie) ; **G** et **H** : hémoglobine instable (hémoglobine Köln) : présence d'hématies mordues (M) ; **I** : sphérocytose héréditaire ; **J** : incompatibilité ABO : nombreux sphérocytes ; **K** : sphérocytose héréditaire (déficit en bêta-spectrine) : présence de sphérocytes et acanthocytes ; **L** : sphérocytose héréditaire (déficit en protéine bande 3) : présence de sphérocytes et de forme « champignon » (C) ; **M** : AHAI chez un jeune enfant : phagocytose par les polynucléaires d'hématies, image rare mais évocatrice ; **N** : AHAI chez un jeune enfant : présence de sphérocytes et d'hématies polychromatophiles ; **O** : stomatocytose avec hématies déshydratées : présence de rares stomatocytes, quelques hématies cibles et de rares acanthocytes ; **P** : stomatocytose avec hématies hyperhydratées : présence de nombreux stomatocytes.

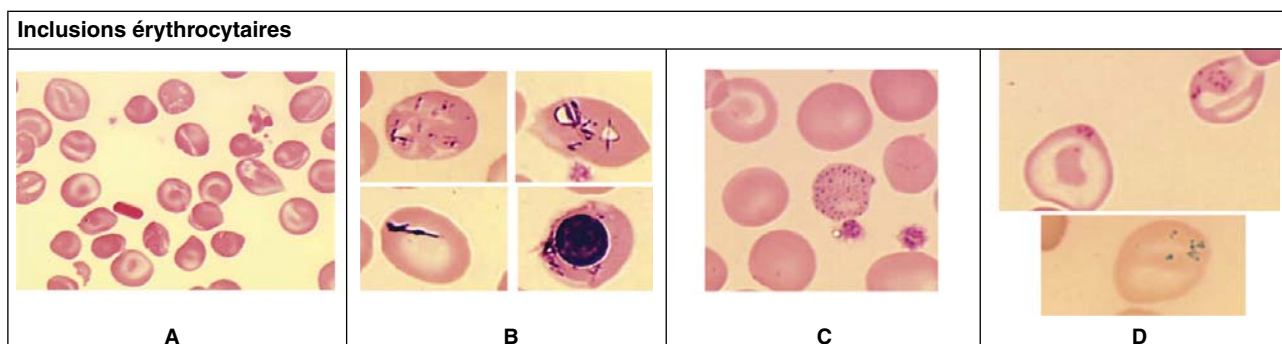


Figure 5. Images d'inclusions érythrocytaires. **A** : hémoglobinose C homozygote : nombreuses hématies cibles, certaines sont déformées par les cristaux d'hémoglobine C ; cristal libre sous forme de bâtonnet foncé ; **B** : porphyrie érythro-poïétique congénitale : présence de cristaux de porphyrines dans les hématies et les érythroblastes ; **C** : thalassémie : hématies cibles, hématies ponctuées ; **D** : drépanocytose. En haut : cellules contenant des corps de Pappenheimer (coloration au MGG) ; en bas : granules contenant du fer colorés en bleu-vert par la coloration de Perls.

Dans certains cas, en particulier dans les déficits en bêta-spectrine, ou après splénectomie, les sphérocytes sont associés à des acanthocytes, des sphéro-acanthocytes (*figure 4K*). Chez les sujets où l'altération membranaire porte sur la protéine bande 3, une morphologie particulière est notée pour un faible contingent d'hématies, qui sont comme pincées en tenaille avec une extrusion en forme de champignon (*figure 4L*). Des acanthocytes sont également notés pour certains patients.

Les sphérocytes ne sont pas spécifiques de la sphérocytose héréditaire. On peut les retrouver dans l'absence d'antigène Rh, au cours des anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) (*figure 4 M et N*) et des hémolyses intra-vasculaires.

Stomatocytes

Les stomatocytes sont caractérisés par une dépression rectiligne en leur centre, donnant l'aspect d'une bouche. Les stomatocytoses héréditaires sont des maladies rares, de la perméabilité membranaire aux cations Na^+ et K^+ [26].

Dans la stomatocytose héréditaire avec hématies déshydratées (xérocytose), le VGM est modérément élevé et la CCMH discrètement augmentée, les stomatocytes sont rares ; il s'y associe quelques cellules cibles et acanthocytes (*figure 4O*).

Dans la stomatocytose héréditaire avec hématies hyperhydratées (hydrocytose, maladie très rare), le VGM est augmenté et la CCMH significativement diminuée. Le pourcentage de stomatocytes est variable d'un patient à l'autre (*figure 4P*).

Inclusions érythrocytaires

Cristaux d'hémoglobine C

Ce sont des cristaux réfringents dus à la condensation de l'HbC, qui se cristallise par suite de la déshydratation des hématies. Ils apparaissent comme des cristaux angulaires

pouvant déformer l'hématie, ils sont parfois libres dans le frottis (*figure 5A*). On les retrouve chez les patients atteints d'hémoglobinose C homozygotes et, à un moindre degré, chez les patients S/C et C/bêta-thalassémiques [27].

Cristaux de porphyrines

Ces cristaux sont constitués de porphyrines libres (non liées au fer) et de leurs précurseurs (acide delta aminolévulinique, phorphobilinogène) qui se sont accumulés dans les cellules de la lignée érythroblastique. Ils apparaissent sous forme de bâtonnets de taille variable, plus ou moins trapus, de couleur rouge foncé, à bouts carrés ou effilés (en forme d'aiguille) (*figure 5B*). Cette accumulation anormale est la conséquence d'un déficit d'une des enzymes intervenant dans la biosynthèse de l'hème et se rencontre essentiellement au cours de la porphyrie érythro-poïétique congénitale [28].

Corps de Jolly

Ce sont des corpuscules sphériques colorés en rouge foncé au MGG, en général uniques dans la cellule. Ils correspondent à des restes de chromatine nucléaire. Ils sont éliminés par la rate. Ils sont donc visibles dans les cas où la rate fait défaut soit par absence congénitale (syndrome d'Ivemark) ou après splénectomie, soit par déficit fonctionnel (syndrome drépanocyttaire).

Ponctuations basophiles

Ce sont des granulations arrondies ou irrégulières, de taille et de nombre variables, réparties régulièrement dans l'ensemble du cytoplasme et colorées en bleu par le MGG (*figure 5C*). Les hématies possédant de telles granulations sont dénommées hématies ponctuées.

Des hématies ponctuées sont retrouvées en grand nombre dans le déficit constitutionnel rarissime en pyrimidine 5' nucléotidase (5'PN), dans le déficit acquis en cette enzyme (intoxication au plomb) et lors de toute anémie chronique

régénérative. Des hématies ponctuées sont également mises en évidence dans les thalassémies, les hémoglobines instables.

Corps de Pappenheimer

Petits granules de 0,5 µm de diamètre, colorés en bleu violet par le MGG et regroupés au sein du cytoplasme (*figure 5D*). Ces granules, contenant du fer, sont colorés en bleu-vert par la coloration de Perls (sidérocytes). Ils sont retrouvés dans les anémies sidéroblastiques congénitales, et chez les patients aspléniques.

Morphologie des érythroblastes

Une érythroblastémie modérée, autour de 0,5 G/L chez le nouveau-né à terme est habituelle, elle disparaît à la fin de la première semaine. Tout taux élevé et persistant au-delà de la première semaine est pathologique et doit faire évoquer une stimulation de l'érythropoïèse, le plus souvent liée à un saignement, une hémolyse, une hypoxie...

Chez les nouveau-nés de mères traitées par antirétroviraux pour infection à VIH, les érythroblastes circulants sont dysmorphiques (asynchronisme nucléo-cytoplasmique, caryorrhexis, plages de deshémoglobinisation) (*figure 6A*).

Les patients atteints de dysérythropoïèse congénitale de type II, peuvent exceptionnellement avoir des érythroblastes circulants à double noyau. Le grand nombre d'érythroblastes binucléés dans la moelle osseuse permet d'orienter le diagnostic (*figure 6B*) [29].

Une anémie sévère peut survenir au cours de la petite enfance des patients atteints du syndrome de Kenny Caffey [30]. La présence de rares érythroblastes circulants apoptotiques est évocateur de cette pathologie (*figure 6C*).

Morphologie des leucocytes

Aspects physiologiques

À la naissance, il existe une hyperleucocytose physiologique qui peut atteindre 15 à 25 G/L avec 55 à 65 % de

polynucléaires neutrophiles. La polynucléose est plus importante chez le nouveau-né à terme que chez le prématuré, mais chez ce dernier la proportion de myélocytes et de métamyélocytes est plus élevée et peut dépasser 5 % [31]. En fait, il existe des variations importantes du nombre de leucocytes d'un nouveau-né à l'autre ainsi que d'un jour à l'autre chez le même nouveau-né. Le chiffre de polynucléaires neutrophiles diminue progressivement pour atteindre 30 à 40 % à l'âge de 1 mois, ce qui va correspondre à la lymphocytose physiologique du nourrisson et de l'enfant jusqu'à 4-5 ans. La morphologie des polynucléaires du nouveau-né est identique à celle du grand enfant et de l'adulte.

Des formes plus immatures (promyélocytes) et surtout des blastes de morphologie indifférenciée peuvent être observés en faible nombre au cours des premiers jours de vie et ce d'autant plus que l'enfant est prématuré (*figure 1B*) [32]. Des hémotogones (précurseurs lymphoïdes B) sont également observées en période néonatale pouvant atteindre 2 % en moyenne [33]. La morphologie des lymphocytes chez le nouveau-né et le jeune enfant est plus hétérogène quant à la taille et à la texture chromatiniennne (*figure 1C*).

Anomalies des polynucléaires neutrophiles

Le sang du nouveau-né est polyglobulique et plus difficile à étaler correctement sur lame, il s'ensuit des altérations de la morphologie des éléments sans pathologie sous-jacente (*figure 1D*).

Au cours des infections bactériennes sévères du nouveau-né, la morphologie des polynucléaires est altérée, tout comme chez le grand enfant, avec défaut de segmentation, dégranulation ou au contraire présence de granulations toxiques, de vacuoles, de corps de Döhle (*figure 7A*). Parfois, on observe un gigantisme et des doubles noyaux (*figure 7B*). Des germes, des levures, des parasites peuvent être retrouvés dans les polynucléaires neutrophiles (*figure 7C*).

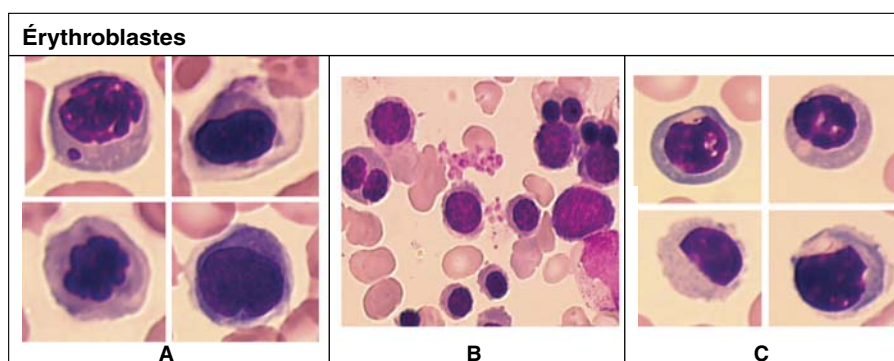


Figure 6. Anomalies des érythroblastes. **A** : nouveau-né de mère atteinte de sida et traitée par anti-rétroviraux : tous les érythroblastes circulants sont dysmorphiques ; **B** : dysérythropoïèse de type II (frottis médullaire) : présence de nombreux érythroblastes à double noyau ; **C** : syndrome de Kenny. Lors d'épisode d'anémie, les érythroblastes circulants présentent des signes d'apoptose.

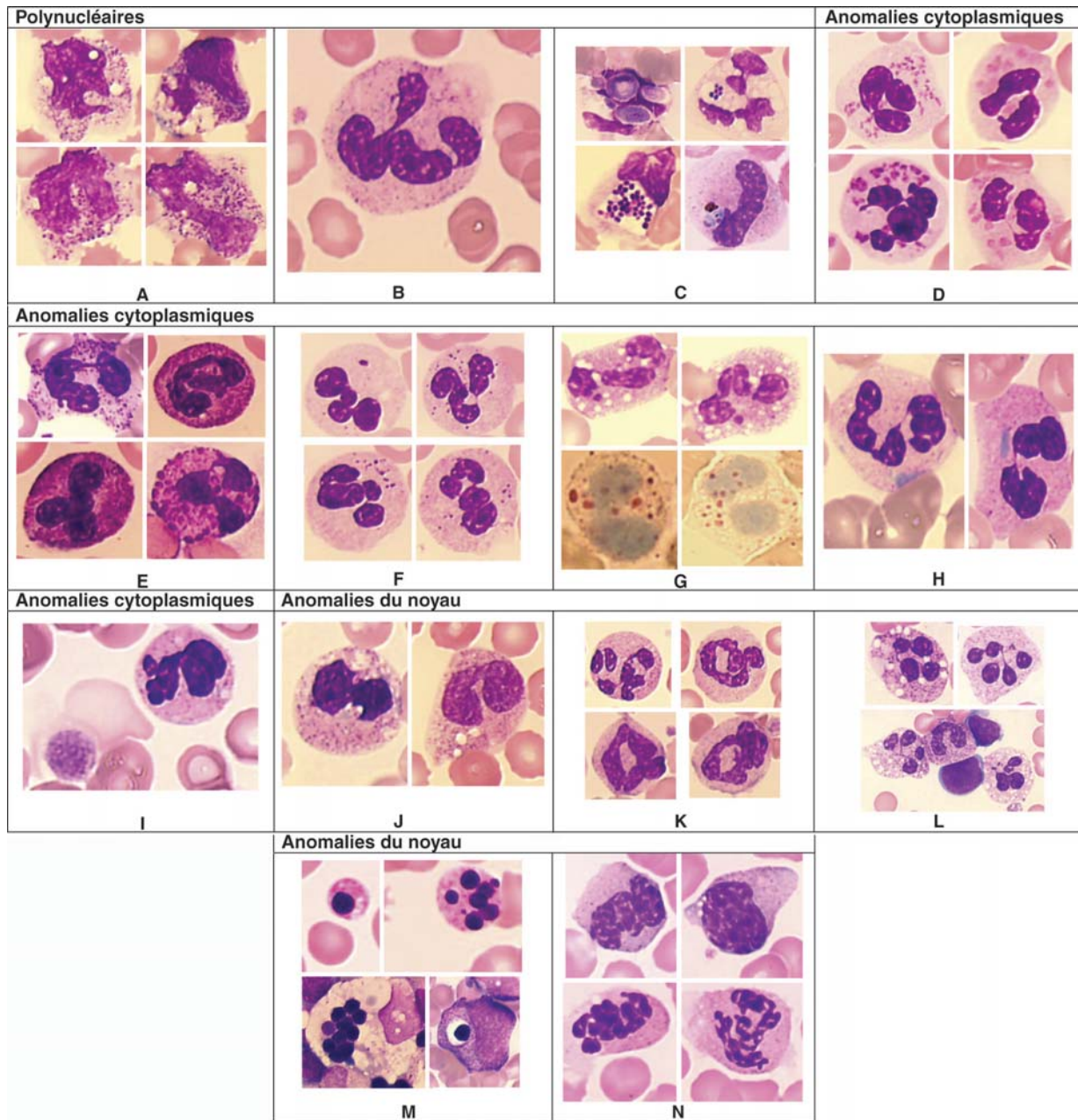


Figure 7. Anomalies des polynucléaires neutrophiles. **A** : infection bactérienne sévère: polynucléaires avec vacuoles, granulations toxiques et corps de Döhle ; **B** : salmonellose : polynucléaire neutrophile à double noyau ; **C** : levures, bactéries, parasites phagocytés par des polynucléaires neutrophiles ; **D** : maladie de Chediak Higashi : granulations des polynucléaires neutrophiles éparses, grossières, d'affinité tinctoriale variable au MGG ; **E** : maladie de Maroteaux Lamy : anomalie d'Alder, renforcement plus ou moins net des granulations azurophiles ; **F** : maladie de Morquio : granulations rares, souvent regroupées par paire ; **G** : déficit en bêta oxydation des acides gras : vacuoles cytoplasmiques, coloration en rouge des lipides par l'Oil Red O ; **H** : maladie de May-Hegglin : présence de plages basophiles de grande taille, localisées en périphérie, parfois au sein du cytoplasme ; **I** : syndrome de Fechtner : plages basophiles plus nombreuses mais plus petites et discrètes ; **J** : infection bactérienne sévère : polynucléaires neutrophiles hyposegmentés à 2 lobes ; **K** : anomalie congénitale de la vitamine B12 (mutant Cbl C) polynucléaires plurisegmentés mais également rubanés (photos du bas) ; **L** : myelokathexis. Polynucléaires neutrophiles aux noyaux hypersegmentés avec de longs filaments fins reliant les lobes, présence de vacuoles cytoplasmiques. Cet aspect est retrouvé dans la moelle osseuse pour tous les polynucléaires, rarement dans le sang ; **M** : intolérance aux protéines dibasiques. En haut : présence de polynucléaires neutrophiles picnotiques ; en bas : histiocyte et précurseur myéloïde phagocytant des noyaux nus ; **N** : acidurie méthylmalonique : monocytes et polynucléaires neutrophiles ayant une chromatine déstructurée.

Des anomalies morphologiques cytoplasmiques (granulations, vacuoles, inclusions) et nucléaires sont évocatrices de différentes pathologies constitutionnelles.

Anomalies des granulations

Au cours de la maladie de Chediak-Higashi [34], du fait d'une anomalie de fusion des granulations cytoplasmiques, les granulations de tous les polynucléaires neutrophiles sont très remaniées. Elles apparaissent éparées, plus volumineuses et d'affinité tinctoriale variable au MGG (*figure 7D*).

Au cours des mucopolysaccharidoses (MPS), l'anomalie d'Alder correspond à des granulations azurophiles plus grosses, plus denses anormalement surchargées en mucopolysaccharides (*figure 7E*). La MPS de type IV (maladie de Morquio) ne présente pas d'anomalie d'Alder, les polynucléaires neutrophiles ont des granulations rares, éparées, d'aspect grossier et regroupées souvent par paires (*figure 7F*).

Dans le déficit héréditaire en granules spécifiques, les granulations sont rares [35].

Vacuoles cytoplasmiques

Des vacuoles cytoplasmiques de nature lipidique colorées en rouge par l'Oil Red O (anomalie de Jordans) [36] sont retrouvées dans le syndrome de Dorfman-Chanarin [37] et dans le déficit en bêta-oxydation des acides gras (*figure 7G*) ainsi que dans le déficit en carnitine.

Inclusions basophiles

Les corps de Döhle sont des inclusions bleu-pâle au MGG, de petite taille, fusiformes (formées de ribosomes libres). Ils sont retrouvés dans diverses pathologies, notamment infectieuses.

La découverte d'inclusions basophiles (dénommées pseudocorps de Döhle) dans les polynucléaires neutrophiles associées à une thrombopénie avec plaquettes de taille augmentée orientent vers le diagnostic de syndrome MYH9 [38]. Dans l'anomalie de May-Hegglin, on retrouve une ou parfois deux inclusions basophiles, en général de grande taille et bien visibles, souvent localisées en périphérie (*figure 7H*). Elles sont plus petites et discrètes dans le syndrome de Fechtner et de Sebastian (*figure 7I*) [39]. De transmission autosomique dominante, ces syndromes représentent des variants alléliques du même gène MYH9 (22q12-13) qui code pour la chaîne lourde de la myosine non musculaire de type IIA (NMMHC-IIA). Cette anomalie explique les inclusions leucocytaires (dimérisation anormale de la NMMHC-IIA qui, instable, précipite dans le cytoplasme).

Anomalies du noyau

Les anomalies portent sur le degré de segmentation et sur la texture de la chromatine.

L'anomalie de Pelger-Hüet est une anomalie héréditaire de transmission autosomique dominante qui se traduit par

un noyau hyposegmenté à 2 lobes, sans aucun retentissement sur la fonction du polynucléaire neutrophile. Une telle anomalie est retrouvée fréquemment en pathologie acquise notamment lors d'infections sévères (*figure 7J*), de prise de toxiques (colchicine, endoxan...), de myélodysplasie isolée ou dans le cadre d'hémopathies aiguës.

L'hypersegmentation constitutionnelle de Undritz est une anomalie à transmission autosomique dominante sans conséquence pathologique où la majorité des polynucléaires neutrophiles ont 5 lobes ou plus.

Une hypersegmentation des polynucléaires se retrouve également dans les carences en vitamine B12 ou folates. Dans les anomalies congénitales en folates ou en vitamine B12, l'anomalie de segmentation est parfois particulière avec un noyau rubané plutôt qu'hypersegmenté (*figure 7K*).

Des polynucléaires géants (5 à 15 %) avec 6 à 10 lobes sont décrits dans une maladie héréditaire très rare de transmission autosomale dominante, asymptomatique.

Les rares patients atteints du syndrome de WHIM et de myélokathexis, [40] ont une leuco-neutropénie. Dans la moelle osseuse, leurs polynucléaires neutrophiles présentent un noyau hypersegmenté et de longs filaments reliant les lobes et des vacuoles cytoplasmiques. Ces anomalies sont rarement présentes dans le sang circulant (*figure 7L*).

Au cours de la trisomie 13 qui se caractérise par diverses malformations congénitales, la majorité des polynucléaires neutrophiles présentent des anomalies à type de projections nucléaires sessiles ou pédiculées. Des anomalies similaires ont été décrites dans la trisomie 14 avec mosaïcisme [41].

Dans l'intolérance aux protéines dibasiques, la présence de noyaux picnotiques, réduits à une ou plusieurs masses rondes denses, peut être évocatrice [42]. Cette maladie métabolique héréditaire, rare, est souvent de révélation néonatale avec anémie, thrombopénie. De rares polynucléaires neutrophiles picnotiques sont notés dans le sang (*figure 7M*) et dans la moelle osseuse où s'associe également une infiltration d'histiocytes. Les histiocytes et les précurseurs myéloïdes phagocytent de façon sélective des noyaux nus. Ces images sont évocatrices de l'intolérance aux protéines dibasiques (*figure 7M*).

Les noyaux des polynucléaires et des monocytes peuvent avoir une chromatine défectueuse au cours du déficit en méthylmalonyl-coenzyme A mutase (*figure 7N*) [43], responsable d'une acidurie organique de révélation néonatale. Une telle chromatine déstructurée peut être observée en pathologie acquise, au cours de grandes hyperthermies.

Anomalies des polynucléaires éosinophiles

Chez certains patients atteints du rare déficit héréditaire en peroxydase des éosinophiles, les éosinophiles ont un noyau hypersegmenté et des granulations intracytoplasmiques.

ques en nombre diminué. Une telle morphologie est également retrouvée au cours d'hyperéosinophilie réactionnelle (infections, traitement par facteur de croissance...).

Au cours de différentes maladies de surcharge lysosomale, les éosinophiles peuvent être anormaux [44]. Dans la sialidose et la gangliosidose à GM1, les éosinophiles ont des granulations anormalement grosses, éparses, de couleur grise (*figure 8A*). Des lymphocytes vacuolés sont également retrouvés. Les polynucléaires éosinophiles au cours des mucopolysaccharidoses (notamment le type VI) ont des granules de teintes anormales, grise, violacée, rouge, diversement associées (*figure 8B*). Les granulations sont en nombre réduit chez les patients atteints de mucosulfatidose.

Dans la maladie de Chediak-Higashi, tous les polynucléaires éosinophiles ont de grosses granulations cristalloïdes (*figure 8C*).

Des corps amorphes, ronds colorés en gris au MGG ont été décrits dans les éosinophiles et basophiles de rares sujets, sans pathologie associée [45].

Anomalies des monocytes

Les monocytes sont également touchés dans différentes pathologies constitutionnelles où les polynucléaires sont également anormaux. Citons la maladie de Chediak-Higashi (granulations géantes), les mucopolysaccharidoses type I, type VI et VII (grosses granulations violet foncé) (*figure 8D*), la maladie de May-Hegglin (plage basophile).

Anomalies des lymphocytes

Pathologies infectieuses

Au cours de différentes pathologies infectieuses virales, bactériennes, parasitaires, la mise en jeu des réactions immunitaires entraîne l'apparition, fréquente chez l'enfant, d'éléments lymphoïdes de morphologie particulière.

Les cellules mononucléées hyperbasophiles ont un aspect hétérogène en taille et en texture chromatinienne. Les cellules les plus typiques sont de grande taille (15 à 20 µm de diamètre), le cytoplasme est basophile avec renforcement de la basophilie en périphérie, le noyau, souvent en drapeau, peut être nucléolé, des fines granulations azurophiles sont parfois visibles (*figure 9A*). Leur grand nombre, supérieur à 10-15 %, suggère un syndrome mononucléosique [46]. Les principaux virus responsables sont l'EBV, le CMV, les virus de l'hépatite, de la rougeole, de la varicelle. Au cours de la rubéole, les éléments sont plus « plasmocytaires ». De telles cellules sont retrouvées également mais à un moindre taux lors d'autres infections virales et non virales telles que l'infection à mycoplasme ainsi que lors du paludisme, la toxoplasmose, la fièvre typhoïde, la brucellose...

Au cours de la coqueluche qui peut survenir chez le nourrisson, l'hyperlymphocytose est constituée d'une population homogène de petits lymphocytes matures dont certains ont un noyau fendu, mais cet aspect n'est pas constant (*figure 9B*).

Maladies de surcharge

Des anomalies morphologiques des lymphocytes peuvent être révélatrices de pathologies métaboliques héréditaires. Plusieurs anomalies lymphocytaires sont décrites au cours des maladies de surcharge lysosomale [47].

Les *lymphocytes vacuolés* peuvent représenter 5 à 80 % des lymphocytes. Les vacuoles sont optiquement vides, sauf dans le cas de la mucopolipidose de type II où il peut exister une coloration rose du contenu des vacuoles (*figure 9C*) [48]. Dans la maladie de Hunter, les vacuoles sont fréquemment cerclées de rose, correspondant aux lymphocytes rhodocircés [49] (*figure 9C*). Les vacuoles ont 1 à 2 µm de diamètre ; leur nombre est variable et peut aller jusqu'à une cinquantaine. Elles sont éparses ou accolées les unes aux autres, bien visibles dans les grands lymphocytes. La taille et le nombre de vacuoles des lym-

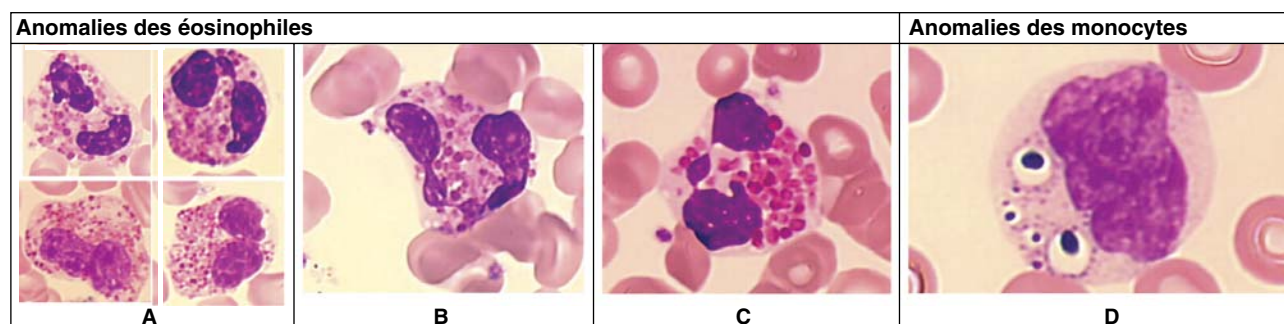


Figure 8. Anomalies des éosinophiles et des monocytes. **A** : polynucléaires éosinophiles anormaux : En haut : maladie de Landing ; en bas : sialidose ; **B** : mucopolysaccharidose : anomalie d'Alder, certains polynucléaires éosinophiles ont des granules de teinte anormale ; **C** : maladie de Chediak Higashi : tous les polynucléaires éosinophiles ont de grosses granulations cristalloïdes ; **D** : maladie de Hurler : monocyte avec de grosses granulations violet foncé.

phocytes ainsi que leur proportion varient selon les différents types de maladies de surcharge (*tableau 1*).

Une maladie de Wolman [50] est suggérée devant la découverte de lymphocytes vacuolés avec de petites vacuoles en grappe, de coloration oil red O positive (colorant des lipides) (*figure 9D*).

La présence de vacuoles multiples suggère différentes maladies (maladie de Landing, mannosidose...) (*figure 9E*) (*tableau 1*).

L'anomalie est habituellement suffisamment nette pour que l'on puisse affirmer son caractère pathologique et la différencier des microvacuoles visibles dans les lymphocytes normaux.

Le *lymphocyte de Gasser* (*figure 9F*) est caractérisé par la présence au sein de vacuoles d'une inclusion de teinte violet noir au MGG. La taille et le nombre de telles vacuoles sont très variables. Parfois, une même vacuole peut contenir plusieurs inclusions. La recherche doit être attentive (1 à 10 % des lymphocytes). Leur présence est évocatrice de certaines mucopolysaccharidoses (MPS) (*tableau 1*). Il ne faut pas les confondre avec des lympho-

cytes normaux ayant des granulations azurophiles au sein de microvacuoles.

Les *lymphocytes à granulations anormales* possèdent 5 à 10 granulations violacées au MGG regroupées à 1 ou 2 pôles du cytoplasme du lymphocyte (*figure 9G*). Les granulations peuvent être au sein d'une volumineuse vacuole ou de plusieurs vacuoles. Ce type de lymphocytes se rencontre dans les mucopolysaccharidoses, essentiellement dans la maladie de Sanfilippo. Les granules sont métachromatiques au bleu de toluidine.

Il ne faut pas les confondre avec des lymphocytes à grains qui n'ont normalement pas de métachromasie au bleu de toluidine (*figure 1E*). La mise en évidence de ces cellules de surcharge réclame un examen attentif et l'observation d'au moins 100 lymphocytes. Un résultat négatif n'exclut pas une maladie de surcharge.

Au cours de la maladie de Chediak-Higashi, la présence dans certains lymphocytes d'une ou plusieurs volumineuses inclusions rouge vif est très évocatrice de cette pathologie (*figure 9H*).

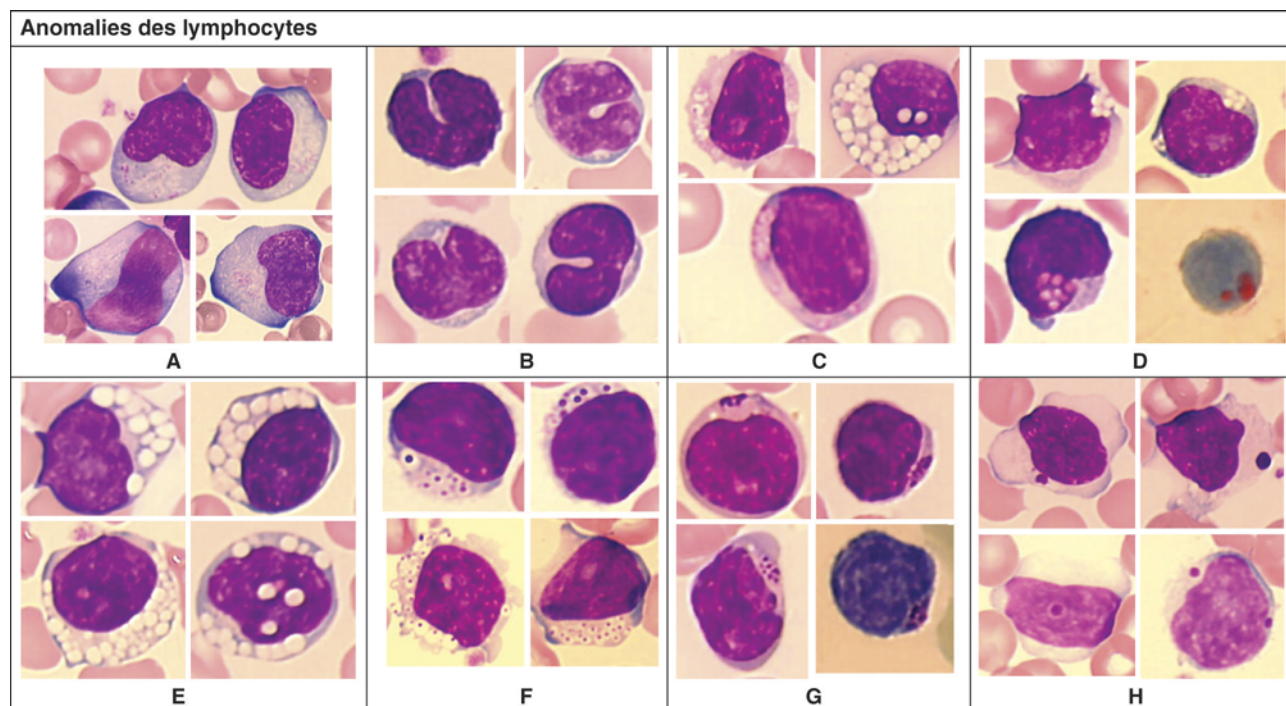


Figure 9. Anomalies des lymphocytes. **A** : syndrome mononucléosique : cellules typiques de grande taille, renforcement de la basophilie en périphérie, granulations azurophiles parfois visibles ; **B** : coqueluche : présence de petits lymphocytes matures dont certains ont un noyau fendu ; **C** : lymphocytes vacuolés : en haut : mucopolipidose de type II avec présence d'une teinte ou de grain rosée dans certaines vacuoles ; en bas : lymphocyte rhodocircé dans une maladie de Hunter ; **D** : maladie de Wolman : lymphocytes vacuolés avec des vacuoles de petite taille et en grappe, colorées en rouge par l'Oil Red O ; **E** : maladie de Landing : nombreux lymphocytes vacuolés avec des vacuoles larges et multiples ; **F** : mucopolysaccharidose : présence de lymphocytes de Gasser ; **G** : maladie de Sanfilippo : lymphocytes à granulations anormales, granulations foncées regroupées, et ayant une métachromasie au bleu de toluidine (photo en bas à droite) ; **H** : maladie de Chediak Higashi : volumineuses inclusions rouge vif au MGG dans certains lymphocytes (lymphocytes T cytotoxiques et cellules *natural killer*).

Tableau 1. Maladies de surcharge lysosomale et anomalies cytologiques.

Maladie	Déficit enzymatique	Anomalies cytologiques	
		Sang	Moelle
1- Sphingolipidoses			
Gangliosidose à GM1 (<i>Maladie de landing</i>)	β -galactosidase	L. vacuolés + (v. multiples et larges), éosinophiles anormaux	H. vacuolés +, P. vacuolés +
Gangliosidose à GM2			
Maladie de Tay-Sachs	Hexosaminidase A	L. vacuolés \pm	H. bleus \pm ,
Maladie de Sandhoff	Hexosaminidases A et B	L. de Gasser \pm , L. vacuolés \pm	H. vacuolés \pm , H. bleus \pm
Maladie de Gaucher	Glucocérébrosidase		H. de Gaucher ++
Maladie de Niemann-Pick			
Type A	Sphingomyélinase	L. vacuolés (v. petites et rares) \pm	H. vacuolés ++, H. bleus \pm
Type B			H. vacuolés ++, H. bleus ++
Maladie de Wolman	Lipase acide	L. vacuolés (v. petites en grappe)	H. vacuolés +
Mucosulfatidose (<i>Maladie d'Austin</i>)	Multiples sulfatases	Anomalie d'Adler +, L. de Gasser +, éosinophiles anormaux	P. de Buhot +, H de Gasser
Maladie de Batten	Thioesterase	L. vacuolés + (v. multiples et larges)	H. bleus
Sialidose II	Glycoprotéine neuraminidase	L. vacuolés + (v. multiples et larges)	H. vacuolés ++
2- Mucopolysaccharidoses			
Type I – Hurler / Scheie	α -L-iduronidase	L. vacuolés \pm , L. de Gasser +, L. à granulations anormales \pm , anomalie d'Adler \pm	H. de Gasser +++, P. de Buhot \pm
Type II – Hunter	Iduronate-sulfatase	L. vacuolés \pm , L. de Gasser +, L. à granulations anormales \pm , L. rhodocircés \pm , anomalie d'Adler \pm	H. de Gasser ++, P. de Buhot \pm
Type III – Sanfilippo (sous-type A, B, C, D)	Enzymes variables dépendant du sous-type	L. vacuolés \pm , L. de Gasser +, L. à granulations anormales ++	H. de Gasser ++, P. de Buhot ++
Type IV – Morquio	N-acétylgalactosamine 6-sulfate sulfatase	Granulations anormales regroupées par paires dans les polynucléaires	
Type VI – Maroteaux-Lamy	N-acétylgalactosamine-4-sulfatase	L. vacuolés \pm , L. de Gasser +, L. à granulations anormales \pm , anomalie d'Adler ++	H. de Gasser +
Type VII – Sly	β - glucuronidase	Anomalie d'Adler +, L. de Gasser +, L. vacuolés \pm	P. de Buhot \pm , H. de Gasser +
3- Oligosaccharidoses			
Mannosidose	α -D-mannosidase	L. vacuolés ++ (v. multiples et larges)	H. vacuolés ++, P. vacuolés
Glycogénose type II <i>Maladie de Pompe</i>	α -glucosidase	L. vacuolés + (v. rares et petites)	H. vacuolés \pm , P. vacuolés +
Fucosidose	α -L-fucosidase	L. vacuolés + (v. petites, nombre variable)	
Aspartylglycosaminurie	Aspartyl glucosamine-amido-hydrolase	L. vacuolés + (v. petites)	
Mucopolipidose type II <i>I cell disease</i>	N-acétylglucosamine-1-phosphotransférase	L. vacuolés ++ v. parfois colorées en rose)	P. vacuolés + (v. parfois colorées en rose), H vacuolés \pm
Mucopolipidose type III		L. vacuolés \pm	H. vacuolés +, P. vacuolés +
4- Déficiences des transporteurs de la membrane lysosomale			
Sialidose (<i>Infantile free sialic acid storage disease</i>)	Défaut de transport de l'acide sialique	L. vacuolés + (v. multiples et larges), éosinophiles anormaux	H. vacuolés +

L : lymphocytes ; H : histiocytes ; P : plasmocytes ; v. : vacuoles ; \pm : anomalie inconstante ; + : anomalie fréquente ; ++ : anomalie constante et nette.

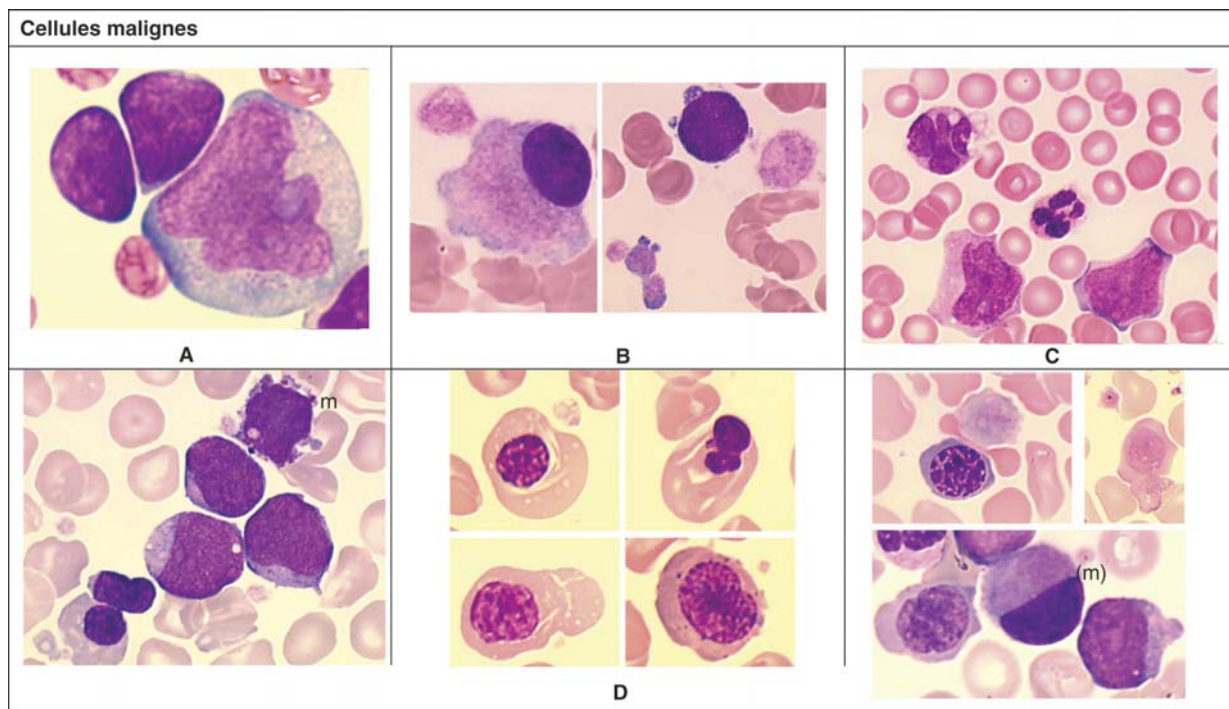


Figure 10. Exemples de cellules malignes. **A** : LAL avec t(4;11) : blastes lymphoïdes et rares blastes monocytoïdes ; **B** : LAM7 avec t(1;22) : plaquettes dysmorphiques, micromégacaryocytes, blastes évocateurs de M7 ; **C** : leucémie myélomonocytaire juvénile (JMML) : présence de monocytes en excès, d'une myélémie et de rares blastes ; **D** : réaction leucémoïde transitoire du nouveau-né mongolien : à gauche : blastes de morphologie myéloïde indifférenciée et mégacaryoblaste (m) ; au milieu : érythroblastes dysmorphiques ; à droite : plaquettes de grandes tailles, dégranulées, parfois avec des expansions, et présence de micromégacaryocytes (m).

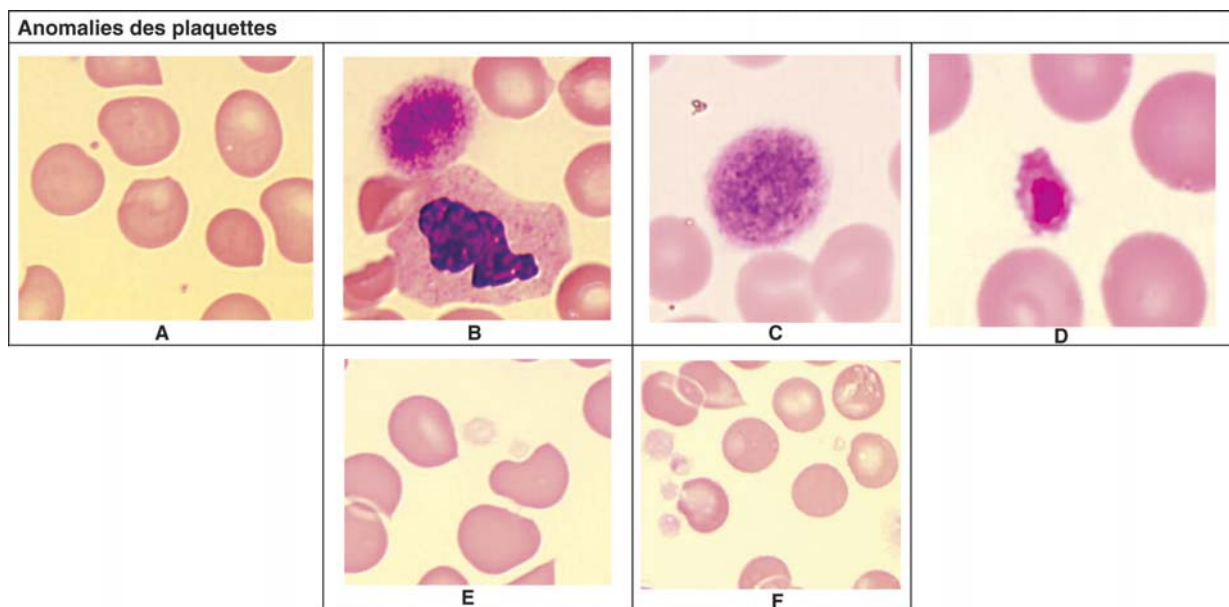


Figure 11. Anomalies des plaquettes. **A** : syndrome de Wiskott-Aldrich : plaquettes de petite taille ; **B** : syndrome MYH9 : plaquettes géantes, discrets pseudocorps de Dölhe dans les polynucléaires (syndrome de Fechtner) ; **C** : syndrome de Bernard Soulier : plaquettes géantes ; **D** : thrombopénie Paris-Trousseau : granule alpha géant au sein de la plaquette ; **E** : syndrome des plaquettes grises ; **F** : syndrome ARCC : absence de thrombopénie, toutes les plaquettes sont grises.

Cellules malignes

Les hémopathies des enfants de moins de un an présentent des particularités par rapport à celles de l'enfant plus âgé. Elles sont de mauvais pronostic et se partagent à égalité en leucémie aiguë lymphoïde (LAL) et leucémie aiguë myéloïde (LAM) [51]. Les LAL ont dans 75 % des cas un remaniement 11q23, essentiellement une translocation t(4;11). On note en général un fort pourcentage de blastes de morphologie lymphoïde, parfois associé à des blastes de morphologie monocytoïde (*figure 10A*).

Les LAM sont en majorité des LAM5. Les chloromes sont fréquents surtout sous forme de nodules cutanés, le pourcentage de blastes dans ces cas peut être faible dans le sang et la moelle osseuse [52].

Les LAM7 avec translocation t(1;22) [53] sont spécifiques du jeune enfant, avec une forte hépatomégalie. La thrombopénie est prédominante, des anomalies morphologiques des plaquettes sont parfois présentes (*figure 10B*).

Une réaction leucémoïde transitoire qui régresse spontanément en plusieurs mois [54] touche 10 % environ des nouveau-nés mongoliens (*figure 10D*). Le frottis sanguin révèle la présence de blastes en nombre variable de morphologie myéloïde indifférenciée ou évocatrice de mégacaryoblastes [55]. Les érythroblastos quand ils sont présents sont très dysmorphiques et les plaquettes sont en nombre très variable, allant de moins de 10 G/L chez certains patients à plus d'un million chez d'autres. Elles sont toujours dysmorphiques (anomalie de taille, de forme, de granulations) et s'accompagnent de micromégacaryocytes.

La leucémie myélomonocytaire juvénile (JMML) [56] qui survient dans la majorité des cas avant l'âge de 4 ans s'accompagne d'une forte splénomégalie et d'un hémogramme très évocateur. L'hyperleucocytose constante révèle une monocytose avec des monocytes le plus souvent dysmorphiques, une érythromyélie et quelques blastes myéloïdes (*figure 10C*). La moelle osseuse hypercellulaire montre une hyperplasie granuleuse.

Morphologie des plaquettes

Des mégacaryocytes de petite taille mononucléés, des noyaux nus de mégacaryocytes sont présents de façon physiologique dans le sang du nouveau-né et celui du prématuré (*figure 1F*) [57]. Les plaquettes du nouveau-né ne présentent pas de morphologie particulière, hormis un degré plus important d'anisocytose chez le prématuré avec un pourcentage plus élevé de plaquettes de taille augmentée.

Les anomalies morphologiques des plaquettes sont associées essentiellement à des thrombopénies constitutionnelles et à de rares pathologies héréditaires. Elles se rencontrent également au cours d'hémopathies.

La thrombopénie se définit par un nombre de plaquettes inférieur à 150 G/L, après avoir éliminé les causes de fausses thrombopénies : le prélèvement activé avec réseau de fibrine et amas de plaquettes en bout de frottis est fréquent en pédiatrie, l'agglutination des plaquettes à l'EDTA est plus rare, le satellitisme des plaquettes aux leucocytes est très rare (*figure 1G*). Les paramètres de l'hémogramme et l'analyse de l'aspect morphologique des plaquettes, ainsi que des leucocytes et des érythroblastos est une étape importante dans la caractérisation des thrombopénies constitutionnelles et contribue au diagnostic différentiel avec les thrombopénies immunes [58].

Les thrombopénies constitutionnelles sont des pathologies rares [59]. Du fait de leur grande hétérogénéité clinique et biologique, la classification la plus couramment utilisée repose sur la taille/volume plaquettaire (selon que l'automate utilise une mesure par cytométrie en flux ou par impédance) [60]. Nous ne traiterons pas les thrombopénies constitutionnelles avec plaquettes de morphologie normale. Nous envisagerons successivement les anomalies de la taille et des granulations plaquettaires et les thrombopénies associées à une dysérythropoïèse.

Anomalies de taille/volume

Volume moyen plaquettaire (VMP) < 7 fl

Les thrombopénies avec plaquettes de petite taille regroupent le syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) et la thrombopénie liée à l'X (XLT), de transmission récessive liée à l'X. Le WAS associe un eczéma et un déficit immunitaire alors que la XLT se traduit par une thrombopénie microcytaire isolée, le VMP est le plus souvent inférieur à 5 fl (*figure 11A*).

Volume moyen plaquettaire > 10 fl

La macrothrombocytopenie familiale (dite méditerranéenne) de transmission autosomale dominante est la cause la plus fréquente de macroplaquettes. La thrombopénie est modérée, le plus souvent asymptomatique.

Le syndrome MYH9 avec macrothrombopénie (*figure 11B*) regroupe 5 entités clinico-biologiques d'expression phénotypique proche : l'anomalie de May-Hegglin, les syndromes de Fechtner, d'Epstein et de Sebastian et le syndrome Alport-like avec macrothrombocytopenie. Le syndrome de Fechtner associe une atteinte rénale glomérulaire avec protéinurie et hématurie, une surdité, une cataracte et une thrombopénie avec macroplaquettes et inclusions basophiles dans les polynucléaires. Le syndrome d'Epstein s'en différencie par l'absence de signes oculaires et d'inclusions basophiles leucocytaires.

Le syndrome de la délétion 22q11.2 (syndrome vélocardiofacial ou de Di George) présente dans sa forme classique un syndrome malformatif. La thrombopénie n'est pas

constante, la présence de macroplaquettes est observée pour la majorité des patients [61].

Dans le syndrome de Bernard Soulier, la thrombopénie d'importance variable est associée à la présence de plaquettes géantes (*figure 11C*) et à une thrombopathie caractérisée par l'absence d'agglutination des plaquettes en présence de ristocétine liée à un défaut génétique d'expression du complexe glycoprotéique GPIb-IX-V, récepteur plaquettaire du facteur Willebrand. Dans la moelle osseuse, la lignée mégacaryocytaire est abondante avec des vacuoles cytoplasmiques.

Des plaquettes de taille augmentée sont également décrites chez de rares patients traités par cholestyramine (hypolipémiant) [62].

Anomalies des granulations

La délétion de la bande terminale du chromosome 11q [63] (également appelée syndrome de Jacobsen) induit des dysmorphies multiples, des anomalies cardiaques congénitales et une thrombopénie dans 50 % des cas individualisés. Elle caractérise la thrombopénie Paris-Trousseau, thrombopénie avec macroplaquettes. Certaines plaquettes ont un granule alpha géant bien visible (*figure 11D*).

Au cours du syndrome des plaquettes grises, pathologie peu hémorragique, les plaquettes apparaissent grises, agranulaires. Cette pathologie est liée à un déficit en granules alpha (*figure 11E*) et est à différencier des plaquettes dégranulées lors d'un prélèvement activé.

Des plaquettes grises (*figure 11F*) sans thrombopénie se rencontrent également au cours du syndrome ARCC (*arthrogriposis, renal Fanconi, cerebral, cholestasis*) [64].

Thrombopénie associée à une dysérythropoïèse

La thrombopénie liée à l'X avec dysérythropoïèse est secondaire à des mutations ponctuelles de *GATA-1*. La symptomatologie hémorragique et l'importance de l'anémie varient selon le type de mutation. Les érythroblastes circulants sont dysmorphiques et la moelle osseuse riche révèle des signes de dysérythropoïèse et de dysmégacaryopoïèse [65, 66].

Conclusion

Les automates d'hématologie identifient les populations normales et signalent par des alarmes ciblées les différentes populations anormales décelées (blastes, lymphocytes atypiques, immatures granuleux, érythroblastes...). La reconnaissance des cellules pathologiques au microscope optique reste indispensable pour le diagnostic, notamment des hémopathies. En pédiatrie, l'étude morphologique au

microscope optique des cellules sanguines, riche en potentiel diagnostique, est nécessaire car les différents automates d'hématologie actuellement disponibles ne permettent pas de détecter la majorité des anomalies morphologiques que nous avons passées en revue et que l'on retrouve essentiellement dans des pathologies héréditaires de révélation dans la petite enfance.

Ainsi, couplée avec les données de l'hémogramme et la numération réticulocytaire, l'étude de la morphologie érythrocytaire permet de mettre en œuvre les examens complémentaires nécessaires pour caractériser l'anémie (électrophorèse de l'hémoglobine, dosages enzymatiques, test de Coombs érythrocytaire, ektacytométrie [67], électrophorèse des protéines membranaires...)

De même, en association avec les données cliniques, l'hémogramme, la morphologie des leucocytes et des hématies permettent d'orienter le diagnostic des maladies métaboliques avec retentissement hématologique dont le diagnostic sera affirmé pour certaines grâce aux données des chromatographies des acides aminés sanguins et urinaires et des chromatographies des acides organiques.

Dans le cadre des maladies de surcharge lysosomale, les anomalies cytologiques, quand elles existent, vont orienter les dosages enzymatiques à réaliser.

Remerciements. Nous remercions S. Piveteau pour son excellent travail technique. Nous remercions également T. Cynober (Hôpital Bicêtre – AP-HP) et V. Latger-Cannard (CHU de Nancy) pour leurs critiques et leur aide précieuse.

Références

1. Adam M, Favier R, Douay L. L'hémogramme en pédiatrie. *RFL* 1993 ; 248 : 25-31.
2. Dabbous IA, El Bahlawan L. Infantile pyknocytosis : a forgotten or a dead diagnosis ? *J Pediatr Hematol Oncol* 2002 ; 24 : 507.
3. Lorey F, Charoenkwan P, Witkowska HE, et al. Hb H hydrops foetalis syndrome : a case report and review of literature. *Br J Haematol* 2001 ; 115 : 72-8.
4. Kondratyev A, Rideau A, Samii K, et al. Pathologie moléculaire de l'anémie sidéroblastique. *Hématologie* 2003 ; 9 : 133-44.
5. Rosenblatt DS, Whitehead VM. Cobalamin and folate deficiency : acquired and hereditary disorders in children. *Semin Hematol* 1999 ; 36 : 19-34.
6. Girot R, Hamet M, Perignon JL, et al. Cellular immune deficiency in two siblings with hereditary orotic aciduria. *N Engl J Med* 1983 ; 308 : 700-4.
7. Bader-Meunier B, Leverger G, Tchernia G, et al. Clinical and laboratory manifestations of congenital dyserythropoietic anemia type I in a cohort of french children. *J Pediatr Haematol Oncol* 2005 ; 27 : 416-9.
8. Wong P. A basis of the acanthocytosis in inherited and acquired disorders. *Med Hypotheses* 2004 ; 62 : 966-9.

9. Gregg RE, Wetterau JR, Berriot-Varoqueaux N, Aggerbeck LP, Samson Bouma M. The molecular basis of abetalipoproteinemia. *Curr Opin Lipidol* 1994 ; 5 : 81-6.
10. De Franceschi L, Olivieri O, Corrocher R. Erythrocyte aging in neurodegenerative disorders. *Cell Mol Biol* 2004 ; 50 : 179-85.
11. Badens C, Thuret I, Lena-Russo D. Les syndromes thalassémiques. *RFL* 2000 ; 324 : 23-7.
12. Del Fattore A, Peruzzi B, Rucci N, *et al.* Clinical, genetic and cellular analysis of forty-nine osteopetrotic patients : implications for diagnosis and treatment. *J Med Genet* 2005 ; Aug 23 : Epub ahead of print.
13. Girot R, Begue P. Sickle cell disease in childhood in 2004. *Bull Acad Natl Med* 2004 ; 188 : 491-506.
14. Silveira P, Cynober T, Dhermy D, Mohandas N, Tchernia G. Red blood cell abnormalities in hereditary elliptocytosis and their relevance to variable clinical expression. *Am J Clin Pathol* 1997 ; 108 : 391-9.
15. Palek J, Jarolim P. Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutations. *Semin Hematol* 1993 ; 30 : 249-83.
16. Jarolim P, Palek J, Amato D, *et al.* Deletion of erythrocyte band 3 gene in malaria-resistant Southeast Asian ovalocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 11022-6.
17. Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* 2002 ; 347 : 589-600.
18. Loirat C. Syndrome hémolytique et urémique typique post-diarrhée : aspects cliniques. *Arch Pediatr* 2001 ; 8 : 776s-784s.
19. Veyradier A, Obert B, Haddad E, *et al.*, on behalf of the French Society of Pediatric Nephrology. Severe deficiency of the specific von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS 13) activity in a subgroup of children with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Pediatr* 2003 ; 142 : 310-7.
20. Dragon-Durey MA, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C, *et al.* Heterozygous and homozygous factor H deficiencies associated with hemolytic uremic syndrome or membranoproliferative glomerulonephritis : report and genetic analysis of 16 cases. *J Am Soc Nephrol* 2004 ; 15 : 787-95.
21. Chenel C, Wood C, Gourrier E, Zittoun J, Casadevall I, Ogier H. Syndrome hémolytique et urémique néonatal, acidurie méthylmalonique et homocystinurie par déficit intracellulaire de la vitamine B12. *Arch Fr Pediatr* 1993 ; 50 : 749-54.
22. Chan TK, Chan WC, Weed RI. Erythrocyte hemighosts : a hallmark of severe oxidative injury *in vivo*. *Br J Haematol* 1982 ; 50 : 575-82.
23. Tillmann W, Labitzke N, Schröter W. Rheological properties of red cells in haemoglobin Köln disease. *Br J Haematol* 1976 ; 33 : 279-87.
24. Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Perrotta S, Alloisio N, Morle L, Delaunay J. Hereditary spherocytosis : from clinical to molecular defects. *Haematologica* 1998 ; 83 : 240-57.
25. Delhommeau F, Cynober T, Schischmanoff O, *et al.* Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. *Blood* 2000 ; 95 : 393-9.
26. Delaunay J. The hereditary stomatocytoses : genetic disorders of the red cell membrane permeability to monovalent cations. *Semin Hematol* 2004 ; 41 : 165-72.
27. Olson JF, Ware RE, Schultz WH, Kinney TR. Hemoglobin C disease in infancy and childhood. *J Pediatr* 1994 ; 125 : 745-7.
28. Murphy GM. Diagnosis and management of the erythropoietic porphyrias. *Dermatol Ther* 2003 ; 16 : 57-64.
29. Wickramasinghe SN. Dyserythropoiesis and congenital dyserythropoietic anaemias. *Br J Haematol* 1997 ; 98 : 785-97.
30. Bergada I, Schiffrin A, Abu Srair H, Kaplan P, Dorman J, Hendy GN. Kenny syndrome : description of additional abnormalities and molecular studies. *Hum Genet* 1998 ; 80 : 39-42.
31. Coulombel L, Dehan M, Tchernia G, Hill C, Vial M. The number of polymorphonuclear leukocytes in relation to gestational age in the newborn. *Acta Paediatr Scand* 1979 ; 68 : 709-11.
32. Xanthou M. Leucocyte blood picture in healthy full-term and premature babies during neonatal period. *Arch Dis Child* 1970 ; 45 : 242-9.
33. Brady KA, Atwater SK, Lowell CA. Flow cytometric detection of CD10 (cALLA) on peripheral blood B lymphocytes of neonates. *Br J Haematol* 1999 ; 107 : 712-5.
34. De Saint Basile G. Implication du trafic intracellulaire dans trois maladies héréditaires du système hématopoïétique. *Med Sci (Paris)* 2000 ; 16 : 745-50.
35. Gallin JI. Neutrophil specific granule deficiency. *Annu Rev Med* 1985 ; 36 : 263-74.
36. Jordans GHW. The familial occurrence of fat containing vacuoles in the leukocytes diagnosed in two brothers suffering from dystrophia musculorum progressiva (ERB). *Acta Med Scand* 1953 ; 145 : 419-23.
37. Srebrnik A, Tur E, Perluk C, *et al.* Dorfman-Chanarin syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1987 ; 5 : 801-8.
38. The May-Hegglin Syndrome Consortium. Mutations in MYH9 result in the May-Hegglin anomaly, and Fechtner and Sebastian syndromes. *Nat Genet* 2000 ; 26 : 103-5.
39. Pujol-Moix N, Kelley MJ, Hernandez A, Muniz-Diaz E, Español I. Ultrastructural analysis of granulocyte inclusions in genetically confirmed MYH9-related disorders. *Haematologica* 2004 ; 89 : 330-7.
40. Balabanian K, Lagane B, Pablos JL, *et al.* WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood* 2005 ; 105 : 2449-57.
41. Dallapiccola B, Ferranti G, Giannotti A, Novelli G, Pasquini L, Porfirio B. A live infant with trisomy 14 mosaicism and nuclear abnormalities of the neutrophils. *J Med Genet* 1984 ; 21 : 467-70.
42. Doireau V, Fenneteau O, Duval M, *et al.* Intolérance aux protéines dibasiques avec lysinurie : aspect caractéristique de l'atteinte médullaire. *Arch Pediatr* 1996 ; 3 : 877-80.
43. Stokke O, Eldjarn L, Norum KR, Steen-Johnsen J, Halvorsen S. Methylmalonic acidemia : a new inborn error of metabolism which may cause fatal acidosis in the neonatal period. *Scand J Clin Lab Invest* 1967 ; 20 : 313-28.
44. Smith H. Anomalies of leucocyte structure. *Diagnosis in pediatric haematology*. New York : Churchill Livingstone, 1996 : 201-38.
45. Tracey R, Smith H. An inherited anomaly of human eosinophils and basophils. *Blood Cells* 1978 ; 4 : 291-8.
46. Raphael M. Mononucleosis syndrome : diagnostic orientation. *Rev Prat* 1994 ; 44 : 407-9.
47. Cosson A, Maroteaux P, Tapon J, Maier M, Girot R. Apport de la cytologie sanguine et médullaire au diagnostic des maladies de surcharge. *Nouv Rev Fr Hematol* 1977 ; 18 : 205-6.
48. Van Den Meer W, Jakobs BS, Bocca G, *et al.* Peripheral blood lymphocyte appearance in a case of I cell disease. *J Clin Pathol* 2001 ; 54 : 724-6.

49. Maier-Redelsperger M, Stern MH, Maroteaux P. Pink rings lymphocyte: a new cytologic abnormality characteristic of mucopolysaccharidosis type II (Hunter disease). *Pediatrics* 1988 ; 82 : 286-7.
50. Wolman M. Wolman disease and its treatment. *Clin Pediatr (Phila)* 1995 ; 34 : 207-12.
51. Biondi A, Cimino G, Pieters R, Pui CH. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood* 2000 ; 96 : 24-33.
52. Rybojad M, Bredoux H, Vignon-Pennamen MD, Prigent F, Morel P, Bourrat E. Neonatal monoblastic leukemia revealed by transitory specific skin lesions. *Ann Dermatol Venereol* 1999 ; 126 : 157-9.
53. Duchayne E, Fenneteau O, Pages MP, *et al.* Acute megakaryoblastic leukaemia: a national clinical and biological study of 53 adult and childhood cases by the Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Leuk Lymphoma* 2003 ; 44 : 49-58.
54. Carpenter E, Valverde-Garduno V, Sternberg A, *et al.* *GATA-1* mutation and trisomy 21 are required only in haematopoietic cells for development of transient myeloproliferative disorder. *Br J Haematol* 2005 ; 128 : 548-51.
55. Lange B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with down's syndrome. *Br J Haematol* 2000 ; 110 : 512-24.
56. Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, *et al.* A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003 ; 17 : 277-82.
57. Levine RF, Olson TA, Shoff PK, Miller MK, Weisman LE. Mature micromegakaryocytes: an unusual developmental pattern in term infants. *Br J Haematol* 1996 ; 94 : 391-9.
58. Bader-Meunier B, Proulle V, Trichet C, *et al.* Misdiagnosis of chronic thrombocytopenia in childhood. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003 ; 25 : 548-52.
59. Nurden AT. Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *J Thromb Haemost* 2005 ; 3 : 1773-82.
60. Balduini CL, Iolascon A, Savoia A. Inherited thrombocytopenias: from genes to therapy. *Haematologica* 2002 ; 87 : 860-80.
61. Latger-Cannard V, Bensoussan D, Grégoire MJ, *et al.* Frequency of thrombocytopenia and large platelets correlates neither with conotruncal cardiac anomalies nor immunological features in the chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Eur J Pediatr* 2004 ; 163 : 327-8.
62. Latger-Cannard V, Sommelet D, Guerci B, Tréchet P, Lecompte T. Platelet gigantism associated with cholestyramine therapy. *Arch Intern Med* 2001 ; 161 : 2619-20.
63. Favier R, Jondeau K, Boutard P, *et al.* Paris-Trousseau syndrome: clinical, hematological, molecular data of ten new cases. *Thromb Haemost* 2003 ; 90 : 893-7.
64. Deal JE, Baratt TM, Dillon MJ. Fanconi syndrome, ichthyosis, dysmorphism, jaundice and diarrhoea – a new syndrome. *Pediatr Nephrol* 1990 ; 4 : 308-13.
65. Trichet C, Beauchamp-Nicoud A, Proulle V, Bader-Meunier B, Tchernia G, Dreyfus M. Les thrombopénies constitutionnelles: de la clinique à la biologie. *Hématologie* 2003 ; 9 : 439-55.
66. Mehaffey M, Newton A, Gandhi M, Crossley M, Drachman J. X-linked thrombocytopenia caused by a novel mutation of *GATA-1*. *Blood* 2001 ; 98 : 2681-8.
67. Bessis M, Mohandas N, Feo C. Automatised ektacytometry: a new method of measuring red cell deformability and red cell indices. *Blood Cells* 1980 ; 6 : 315-27.