

Test à l'EMA ou Test à l'éosine 5'maléimide

F. Dumézy & C. Roumier

Laboratoire d'Hématologie

Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille

Secteur de cytométrie : 03.20.44.43.73, Secrétariat d'hématologie : 03.20.44.47.83



Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille

Le Test à l'EMA est maintenant réalisé dans le secteur de cytométrie en flux des **analyses spécialisées d'Hématologie**.

Lors d'une suspicion de **Sphérocytose Héritaire (SH)**, associant fréquemment une anémie hémolytique chronique, avec des antécédents familiaux (maladie autosomique dominante dans 75% des cas), une CCMH augmentée (>36g/dl), et la présence de sphérocytes sur le frottis sanguin, nous réalisons jusqu'à récemment les tests fonctionnels suivants : la Résistance Globulaire (RG) et le Pink Test.

Depuis l'été 2012 nous avons mis en place au laboratoire **d'Hématologie spécialisée** dans le **secteur de cytométrie en flux** le Test à l'**Eosine 5'maléimide** qui permet de quantifier le pourcentage de perte de la Protéine Bande 3 à la surface de l'hématie.

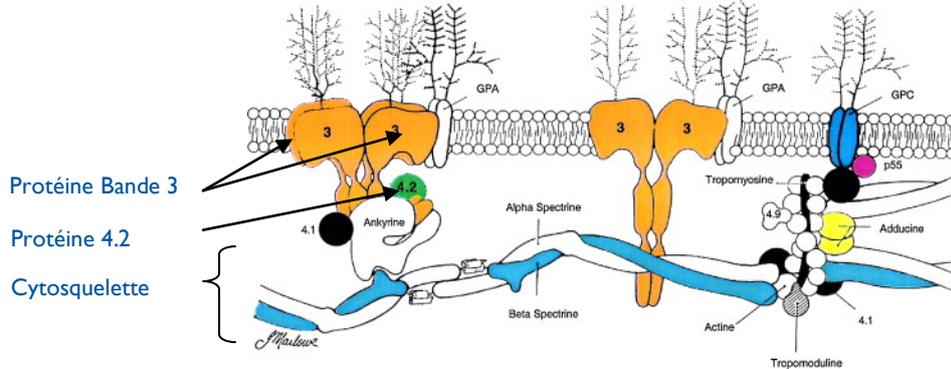


Figure : Organisation de la membrane érythrocytaire (d'après Lux et Palek, 1995)

Le mécanisme physiopathologique de la SH est initié par des **pertes successives de vésicules de membrane par défaut d'ancrage** de celle-ci au cytosquelette de l'hématie. Les **hématies se sphérisent** progressivement, ce qui à terme, provoque leur éclatement par **manque de déformabilité**, et donc l'anémie hémolytique.

Principe du test :

L'EMA est une molécule fluorescente que se lie aux Protéines Bande 3 des hématies. La quantité de **Protéine Bande 3** accessible à l'EMA en surface de l'hématie est proportionnelle à la surface membranaire restante **quelque soit l'anomalie d'ancrage** entraînant les pertes membranaires (spectrine, ankyrine, protéine 4.2 ou Protéine Bande 3).

Les molécules d'EMA liées à l'hématie sont excitées par le LASER du cytomètre et réémettent une fluorescence verte dont l'intensité détectée est proportionnelle à la quantité de molécules fixées. Les intensités de fluorescence émises par les hématies du patient sont comparées à celles émises par les hématies de plusieurs témoins. **Le résultat est rendu sous forme d'un pourcentage de perte de fluorescence** par rapport à ces témoins.

Ainsi le Test à l'EMA est à la fois **plus sensible et plus spécifique** que la RG. :

	Test à l'EMA	Résistance Globulaire	Pink test
Sensibilité	93-96 %	66-74 %	91 %
Spécificité	95-99 %	71 %	
Tube de sang	1 tube EDTA 5ml	1 tube Hépariné 5ml	1 tube EDTA 5ml
Conservation pré-analytique	72 heures	2 heures	2 heures
Acheminement	Dans les 24h en conditions réfrigérées	Dans les 2h	Dans les 2h
Délais moyen de rendu de résultat	1 à 3 jours	1 jour	1 jour
Cotations	BHN40 – E149	B30 - I112	B30 - I112

En conclusion :

Le Test à l'EMA à un intérêt certain en remplacement de la RG. Il doit être **associé au Pink test** (test fonctionnel de confirmation qui est également sensible et spécifique).

Ils permettent ensemble, dans la majorité des cas, de se passer de l'ektacytométrie (réalisée au laboratoire d'hématologie du CHU du Kremlin-Bicêtre).

En pratique :

Sont nécessaires : **2 tubes EDTA 5ml** adressés au laboratoire **d'Hématologie** :

- un tube EDTA dans le secteur de **cytométrie en flux** pour le test à l'EMA.
- un second tube pour le Pink test dans le secteur de cytologie (acheminement impératif dans les 2 heures)

Références :

1. Marie Loosveld, Isabelle Arnoux. Intérêt du test à l'éosine 5' maléimide dans le diagnostic de la sphérocytose héréditaire. Hématologie, vol. 16, n°3, mai-juin 2010
2. Bolton-Maggs PH, Langer JC, Iolascon A, Tittensor P, King MJ. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis--2011 update. Br J Haematol. 2012 Jan;156(1):37-49.
3. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, Marcello AP, Porretti L, Cortelezzi A, Barcellini W, Zanella A. Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics. Haematologica. 2012 Apr;97(4):516-23.