

Année 2021

Mémoire N° : MS0262021

Mémoire de fin d'études

Pour L'obtention du Diplôme National de Spécialité
en Analyses Biologiques Médicales

Intitulé

APPORT DU TEST DE COOMBS DANS LE DIAGNOSTIQUE DES AHAI

Elaboré par :

Docteur Taoufik LAHLOU

Sous la direction du

Professeur Abdelkader BELMEKKI

Encadré par :

Docteur Lamyaa ENNEFFAH

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا
وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ)

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

LISTE DES ABREVIATIONS

AAC : Auto anticorps

AC : Anticorps

ACAN : Anticorps antinucléaires

ADCC : Cytotoxicité anticorps dépendant ou antibodydependent cell mediated cytotoxicity

BDL : Hémolysine biphasique de Donath-Landsteiner



Sommaire

Introduction	1
Définition	5
I. Physiopathologie des Anémies Hémolytiques.....	7
A. Généralités sur l'hémolyse :	7
1. L'hémolyse physiologique	7
1.1. L'hémolyse intra vasculaire.....	7
1.2. Hémolyse intra-tissulaire	8
.....	9
2. L'hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse :	10
2.1. L'hémolyse extravasculaire:(Figure 4).....	12
2.2. L'hémolyse intravasculaire.....	13
B. Mécanismes des anémies hémolytiques auto immunes : [6].....	14
1. Physiopathologie des auto-anticorps chauds	14
1.1. Cytotoxicité dépendante des anticorps (Figure 6)	15
2. Physiopathologie des auto-anticorps froids :	16
Le Système du complément :	16
2.1. La pathogénie des agglutinines froides :	16
3. La production des auto-anticorps :	17
3.1. Les auto-anticorps :	18
II. Exploration par le test à l'antiglobuline	19
A. Le test Direct à l'antiglobuline (TDA)	19
B. Le Test Indirect à l'antiglobuline (TIA).....	19
Matériel et Méthode	23
1. Rappel des objectifs :	24
1.1. Objectif principal	24
2. Matériels et méthodes.....	24
2.1. Type d'étude.....	24

2.2.	Population d'étude	24
2.3.	Période d'étude.....	24
2.4.	Moyens matériels.....	24
2.5.	Méthodes	28
2.5.1.	Phase pré-analytique	28
2.5.1.1.	Prélèvement	28
2.5.1.2.	Circuits des échantillons.....	28
2.5.1.3.	Conservation et transport.....	29
2.5.1.4.	Centrifugation	29
2.6.	Phase analytique	29
3.	Test à l'antiglobuline direct (TAD)	31
3.1.	Principe	31
3.2.	Technique	31
Résultat	35
1.	Test Indirect à l'antiglobuline/Recherches d'anticorps irréguliers (RAI).	37
1.1.	Le Dépistage des recherches d'anticorps irréguliers (RAI).....	37
1.2.	L'identification	39
Discussion	45
Conclusion	48
Résumé	50
Références Bibliographiques	54



Introduction

L'anémie hémolytique auto-immune est essentiellement liée à l'existence sur les globules rouges et/ou dans le plasma d'un autoanticorps acheminé vis-à-vis un ou plusieurs antigènes érythrocytaires. Les hématies sensibilisées ont une courte durée de vie.

Il s'agit d'une hémolyse soit :

- intra-vasculaire
- et/ou tissulaire

Les antigènes cibles des autoanticorps sont des antigènes de grande fréquence (Rhésus), ils sont présents chez la plupart des sujets et rende la transfusion peu efficace. Certains autoanticorps ont une spécificité restreinte, en particulier pour des antigènes du système Rhésus (exemple : auto-anti-e).cette spécificité et cette nature de l'autoanticorps peuvent varier au cours de l'évolution de la maladie.

Les autoanticorps sont dits chauds ou froids selon que leur température d'activité optimale in vitro se situe à 37 °C ou à 4 °C (en réalité de 0 à 30 °C) :

- les autoanticorps chauds sont des IgG polyclonales ;
- les autoanticorps froids sont :
 - des IgM monoclonales pour la maladie de Waldenström ;
 - des IgG biphasiques (fixation à froid et hémolyse à chaud).

Les AHAI touchent des sujets de tout âge.

On distingue généralement les AHAI à anticorps chauds et des AHAI à anticorps froids. [1,2]

a) AHAI à anticorps chauds

C'est la plus fréquente (80 % des cas). Le TCD est de type IgG seul (35 % des cas) ou de type mixte (IgG + complément : 45 % des cas). Parfois de type complément seul (10 % des cas), rarement IgA + IgG (5 %) ou IgM + IgG + complément (5 %).

Des formes asymptomatiques découvertes de façon fortuite lors de l'exploration d'une anémie. Elles sont idiopathiques dans plus de la moitié des cas. Les pathologies associées les plus fréquemment rencontrées sont :

- les hémopathies lymphoïdes ;
- les connectivites et autres affections dysimmunitaires ;
- les cancers.

Sur le plan clinique, tous les intermédiaires sont possibles entre l'hémolyse aiguë intravasculaire et l'hémolyse chronique extravasculaire bien tolérée.

Le test de Coombs peut rester positif plusieurs mois. La présence de C3d sans IgG (avec ou sans agglutinines froides) est souvent associée à une pathologie sous-jacente.

b) AHAI à anticorps froids

In vitro, les autoanticorps froids de type IgM sont responsables d'une agglutination spontanée des globules rouges sensibilisés. Cette autoagglutination est généralement réversible à 37 °C.

In vivo, les autoanticorps froids fixent le complément. L'hémolyse est déclenchée à une température inférieure à 30 °C.

c) Autres formes plus rares d'AHAI :

- Formes mixtes (~7-10%) avec taux faibles d'agglutinines froides.
- IgM à large amplitude thermique (0-37°C), active même à taux faible.

[3,4,10]

L'objectif de ce mémoire est de présenter tout d'abord l'apport de test à l'antiglobuline directe et indirecte sur les anémies hémolytiques auto-immune. La première partie sera dédiée à introduire et une décrire des principes physiopathologiques des AHAI, puis une deuxième partie pratique est dédiée de diagnostic des AHAI par le test de Coombs.



Définition

L'anémie hémolytique auto-immune (AHAI) est une définie comme étant une hémopathie distinguée par un abaissement pathologique du taux des hématies. Ces cellules du sang contiennent de l'hémoglobine qui transporte l'oxygène ; elles assurent ainsi la distribution de celui-ci à toutes les cellules de l'organisme. En temps normal, la durée de vie des globules rouges est de 120 jours. Ensuite, ils sont détruits et remplacés par de nouvelles cellules. Dans le cas de l'AHAI, la durée de vie des globules rouges est diminuée car ils sont détruits de façon prématurée (hémolyse). Le responsable de ce phénomène est un anticorps. Les anticorps sont des éléments essentiels de l'immunité (ou système immunitaire) pour lutter contre les infections. Normalement, ils agissent contre les agents extérieurs (virus, bactéries, etc.). Dans le cas présent, l'un de ces anticorps s'attaque aux globules rouges. La durée de vie des globules rouges est diminuée car ils sont détruits de façon prématurée. Le responsable de ce phénomène est un anticorps.

On distingue plusieurs formes d'AHAI :

Dans 60 % à 70 % des cas associé « anticorps chauds ». Ces anticorps deviennent actifs à une température comprise entre 35 °C et 40 °C. A l'inverse, il existe des AHAI dites à « anticorps froids » (16 % à 32 % des cas) dont l'hémolyse est induite par l'exposition au froid (leur activité étant maximale aux alentours de 4 °C). La maladie chronique des agglutinines froides est la plus fréquente de ces formes.

C'est une maladie relativement rare. [4,5]

I. Physiopathologie des Anémies Hémolytiques

A. Généralités sur l'hémolyse :

1. L'hémolyse physiologique

L'hémolyse est une pathologie liée au destruction de globules rouges libérant l'hémoglobine. Physiologiquement la perte journalière est envisagée dans un intervalle comprise entre 1 et 2 % de la masse globulaire totale.

1.1. L'hémolyse intra vasculaire

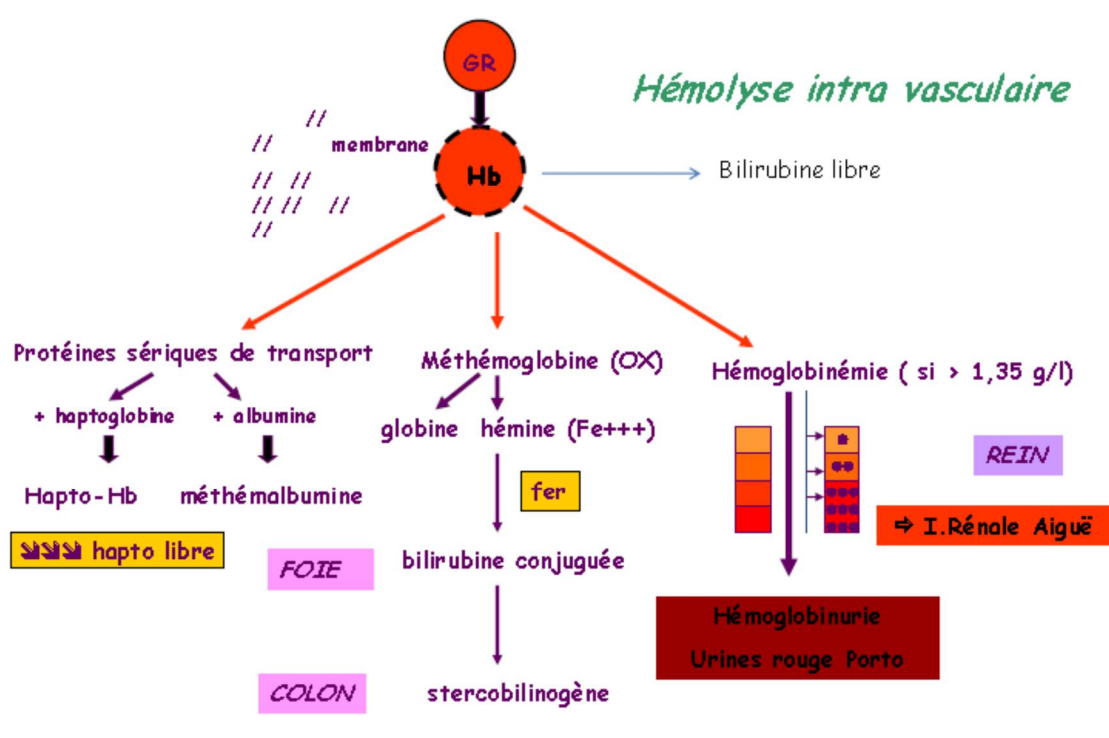


Figure 1 : Schémas d'hémolyse intra-vasculaire [4]

1.2. Hémolyse intra-tissulaire

L'hémolyse intravasculaire est une cause importante de destruction prématurée des globules rouges et se produit généralement lorsque la membrane cellulaire a été sévèrement lésée par un certain nombre de mécanismes différents, dont :

- Phénomènes auto-immuns
- Traumatisme direct (p. ex., hémoglobinurie de marche)
- Contrainte de cisaillement (p. ex., valves cardiaques mécaniques défectueuses)
- Coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)
- Toxines (p. ex., toxines clostridiennes, morsure de serpent venimeux)

L'hémolyse intravasculaire entraîne une hémoglobinémie lorsque le taux d'hémoglobine éliminée au sein du plasma est supérieur à la capacité de fixation de l'hémoglobine par l'haptoglobine, une protéine se trouve au sein du plasma à aux alentours d'une concentration de 1,0 g/L, ce qui induit une réduction de l'haptoglobine plasmatique. En cas d'hémoglobinémie, des dimères d'hémoglobine non liés sont filtrés dans l'urine et réabsorbés par les cellules tubulaires rénales ; une hémoglobinurie en résulte lorsque la capacité de réabsorption est dépassée. Le fer est libéré par l'hémoglobine catabolisée et inclus dans l'hémosidérine dans les cellules tubulaires ; une partie du fer est assimilée pour être réutilisée, tandis qu'une partie est éliminée dans les urines lors de la desquamation des cellules tubulaires. **(Figure 1) [2. 3. 4. 5].**

Hémolyse intra tissulaire

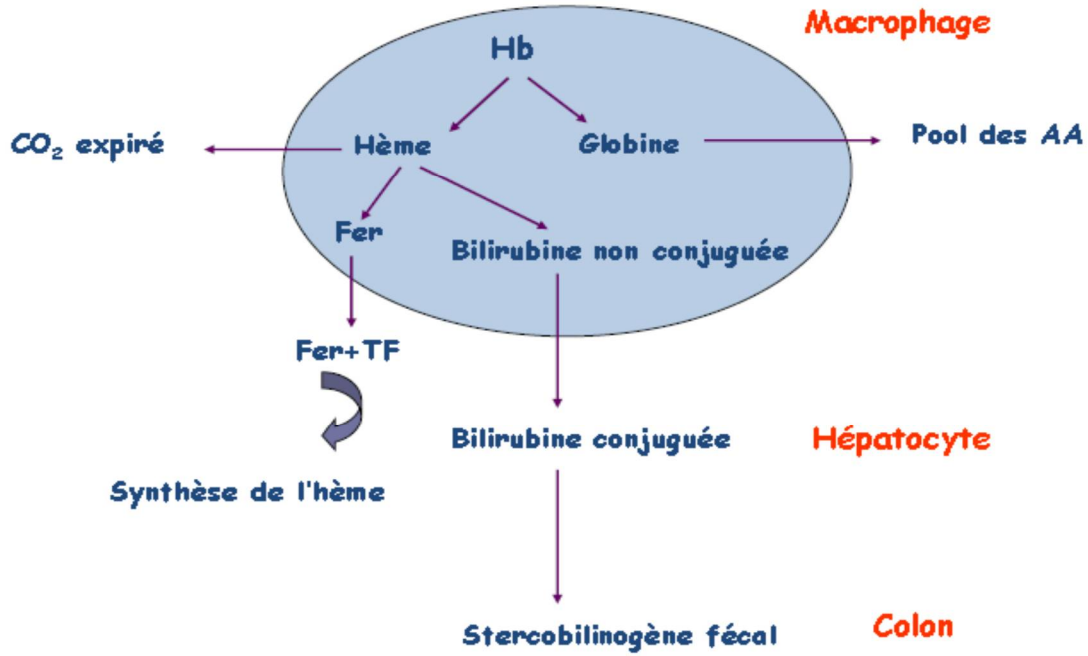


Figure 2 : Schémas d'hémolyse intra-tissulaire [4]

2. L'hémolyse pathologique ou hyper-hémolyse :

Cette destruction des globules rouges se manifeste avec une anémie hémolytique et une augmentation de la concentration de la bilirubine dans le sang.

Si l'hémolyse survient directement à l'intérieur des vaisseaux sanguins, l'hémoglobine se déverse alors dans le plasma. Ce type d'hémolyse est dite intravasculaire et peut être causée par des facteurs mécaniques, par des mécanismes immunologiques qui provoquent la fixation du complément au niveau de la membrane des hématies ou par la présence de substances qui agissent directement sur la membrane cellulaire, en l'endommageant. Plus communément, l'hémolyse survient au niveau des grosses glandes du système monocyto-macrophagique, le foie et la rate.

Les patients qui souffrent de conditions hémolytiques présentent en général certaines valeurs de laboratoire significativement altérées. L'étude hémochromocytométrique permet de mettre en évidence une forme d'anémie. Elles peuvent concerner la membrane des globules rouges, c'est le cas de la drépanocytose. Les globules rouges ayant une forme de faucille en raison d'une malformation génétique qui transforme l'hémoglobine : on parle d'hématites falciformes. Elles peuvent aussi être dues à une destruction excessive des globules rouges. La maladie de Minkowski-Chauffard, les thalassémies et les hémoglobinoses C et M et le déficit de l'enzyme G6PD sont d'autres anémies hémolytiques de type héréditaire. Les anémies hémolytiques peuvent également être acquises. Les causes peuvent être infectieuses, liés à des toxiques, à des prothèses cardiaques, des valvulopathies, etc. Une autre cause est la production d'auto-anticorps par le patient. Ces auto-anticorps viennent alors attaquer les

hématies du malade. C'est une cause auto-immune qui peut aussi provoquer une anémie hémolytique. Les traitements des anémies hémolytiques et des anémies en général sont multiples et adaptés à la cause à l'origine de l'anémie. Pour les anémies hémolytiques dues à des auto-anticorps ou à une infection, les immunosuppresseurs, les corticoïdes et les immunoglobulines sont prescrits. La transfusion sanguine de globules rouges sains est aussi une forme de traitement des anémies. Enfin, pour les anémies hémolytiques, on prescrit très souvent l'acide folique car il participe à la production des globules rouges. [6,8]

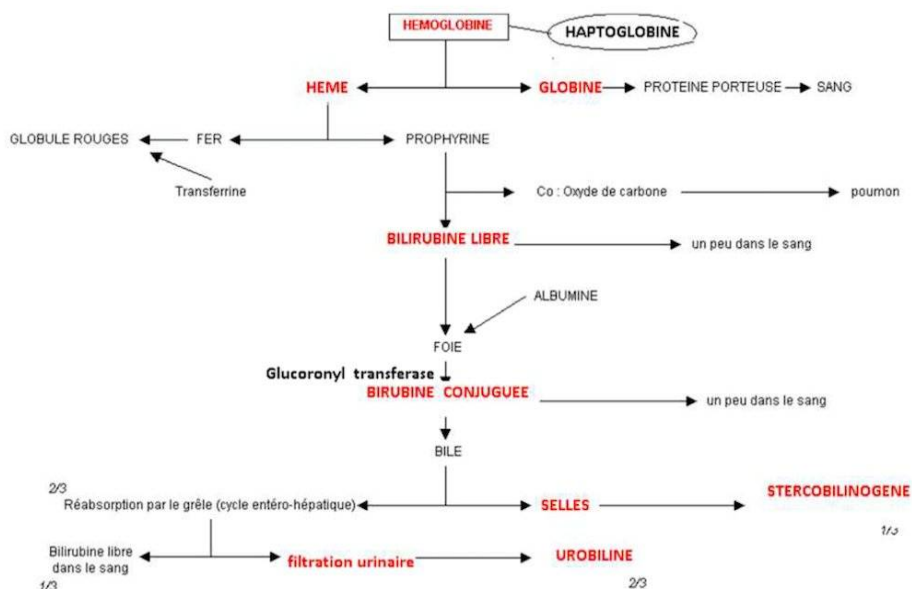


Figure 3 : Hémolyse pathologique ou hyperhémolyse [8]

2.2. L'hémolyse intravasculaire

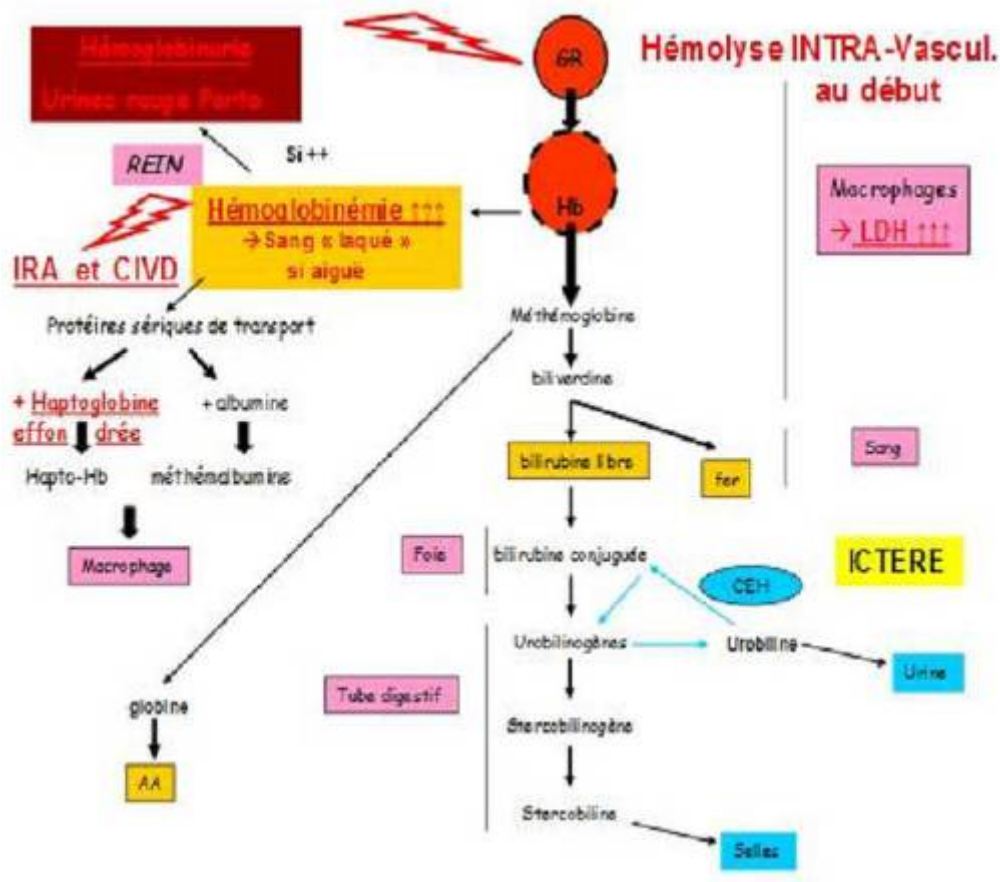


Figure 5 : Hyper-hémolyse intra-vasculaire [9].

CEH : Cycle entéro-hépatique

CIVD : Coagulation intravasculaire disséminé

IRA : Insuffisance rénal aiguë

B. Mécanismes des anémies hémolytiques auto immunes : [6]



1. Physiopathologie des auto-anticorps chauds

Les auto-anticorps anti-GR les plus fréquemment observés sont de type IgG, essentiellement dirigés contre le système Rhésus (RH), actifs à +37°C et principalement responsables d'une hémolyse extravasculaire via l'ADCC. Le titre de l'auto-anticorps va donner des indications sur le risque hémolytique associé à l'auto-anticorps. Si le titre est inférieur ou égal à 1/30, il ne sera pas nécessaire de déterminer les sous-classes de l'auto-anticorps car le risque hémolytique est faible. Par contre, si le titre est supérieur à 1/100, l'identification des sous-classes d'IgG présentes est importante car elles vont donner une indication sur le degré d'hémolyse⁴³. En effet, les IgG1 et IgG3 sont les plus délétères pour les GR car elles se fixent mieux aux récepteurs Fc des macrophages. De plus, les IgG1 et IgG3 fixent mieux la fraction C1 du complément que les IgG2 et IgG4, permettant d'activer la voie du complément. Ainsi, le degré d'hémolyse sera plus important avec des IgG1 et IgG3 qu'avec des IgG2 et IgG4. [7 ,11]

1.1. Cytotoxicité dépendante des anticorps (Figure 6)

La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps est un mécanisme de défense immunitaire par lequel une cellule immunitaire lyse une cellule cible marquée par des anticorps liés à des antigènes présents à sa membrane.

L'ADCC est indépendant du système du complément, qui permet aussi la lyse de cellules via reconnaissance d'anticorps, mais ne requiert pas de cellule effectrice. L'ADCC est effectuée par une cellule effectrice, généralement une cellule NK qui reconnaît les IgG. Il peut aussi s'agir d'un macrophage, un neutrophile ou un éosinophile. [12]

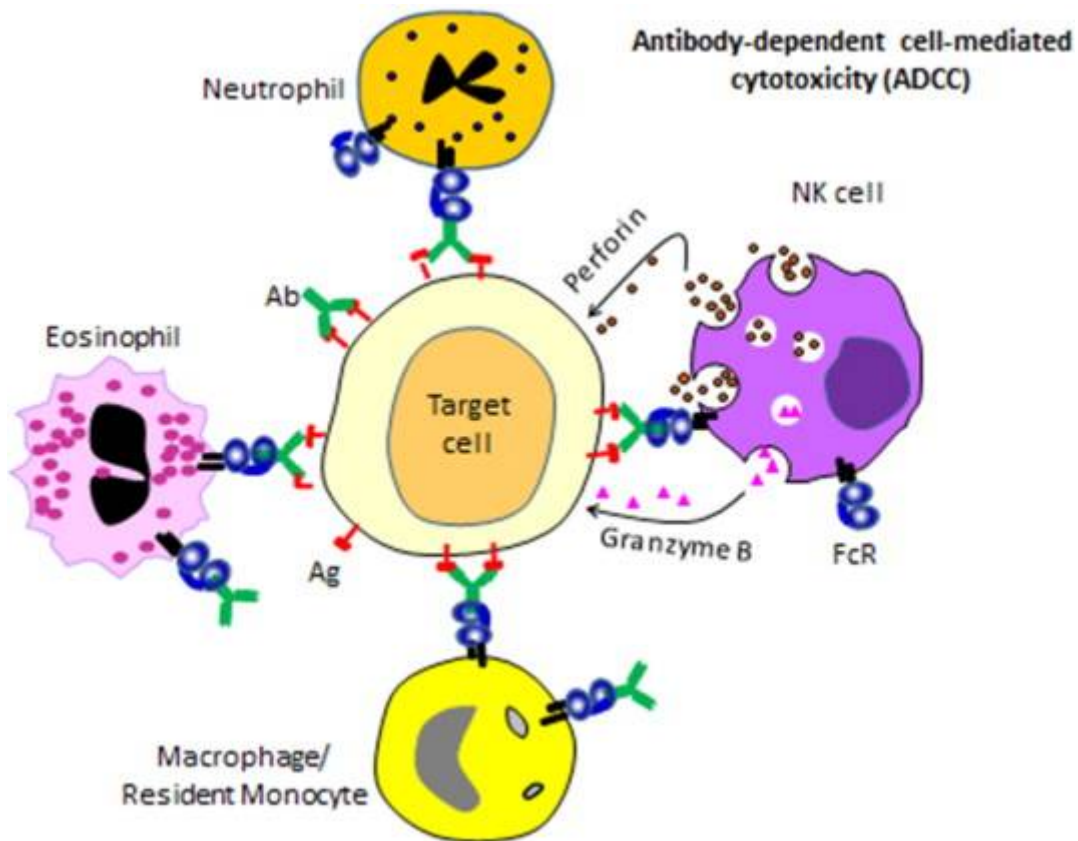


Figure 6 : Cytotoxicité dépendante des anticorps. [12]

2. Physiopathologie des auto-anticorps froids :

La maladie des agglutinines froides est une maladie auto-immune caractérisée par une forte concentration d'anticorps circulant, le plus souvent des IgM, dirigées contre les érythrocytes¹. C'est une forme d'anémie hémolytique auto-immune, plus précisément de celles où les anticorps lient uniquement les hématies entre elles à basse température, généralement entre 28 et 31 °C. [4, 5]

Le Système du complément :

La liaison entre les globules rouges et les anticorps active la voie classique d'activation du système du complément. Si la réponse du système du complément est suffisante, les globules rouges sont abîmés par la formation du complexe d'attaque membranaire. Lors de la formation du complexe d'attaque membranaire, beaucoup de protéines de complément sont insérées dans la membrane des globules rouges, formant des pores qui conduisent à l'instabilité de la membrane et à une hémolyse (destruction des hématies dans les vaisseaux sanguins).[13]

2.1. La pathogénie des agglutinines froides :

Si la réponse du complément n'est pas suffisante pour former le complexe d'attaque membranaire, alors une lyse extravasculaire va être favorisée à la lyse des hématies. À la place de la formation d'un complexe d'attaque membranaire, des protéines du complément (particulièrement les C3b et C4b) sont déposés sur les hématies. Cette opsonisation augmente la distinction de globules rouges par les phagocytes dans le foie, la rate, et les poumons, conduisant à l'hémolyse des globules rouges par ces derniers.

Les individus atteints de la maladie des agglutinines froides présentent les signes d'une anémie hémolytique. [14]

3. La production des auto-anticorps :

Lors de l'introduction d'un antigène incompatible dans la circulation du receveur, une cascade immunologique se produit :

- S'il s'agit d'un antigène T-indépendant, de nature polysaccharidique (ABO/H, P, Le), il y a stimulation directe des lymphocytes B et production d'IgM. Ce sont des anticorps « naturels » qui ne sont pas le fruit d'une allo-immunisation mais d'une hétéro-immunisation liée à des cross-réactivités répétées avec des substances présentes dans l'environnement. Dans ce cas, les anticorps préexistent à l'introduction de l'antigène et il faut différencier les anticorps naturels ABO des autres anticorps naturels détectés par RAI.

- S'il s'agit d'antigène T-dépendant, de type protéique, comme c'est le cas pour les antigènes des systèmes RH, KEL, JK, FY, DO, l'initiation de la réponse immunitaire humorale dépend de la reconnaissance de l'antigène par un lymphocyte T. Il y a présentation de l'antigène aux lymphocytes TCD4 selon les séquences épitopiques immunogènes associées aux molécules HLA de classe II, entraînant une activation lymphocytaire T puis une coopération étroite avec les lymphocytes B aboutissant à la production d'anticorps dirigés contre l'antigène natif. Mais, il existe une variabilité individuelle de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire et on pourrait envisager une stratégie cellulaire de prévention par la recherche de voies d'induction de tolérance vis à vis des antigènes de groupes sanguins. [15,16,18]

3.1. Les auto-anticorps :

L'hyper-hémolyse provoqué par des AHAI est due à des auto-anticorps existant dans le plasma du malade et présents aussi bien liées aux hématies.

Dans le cas des anticorps chauds :

Les anémies hémolytiques auto-immunes de ce type sont dues, la plupart du temps, à des IgG actifs à 37°C. Dans certains cas, elles peuvent être dues à des IgA ou des IgM. C'est la forme la plus fréquente avec 70% des anémies hémolytiques auto-immunes. Elles sont principalement rencontrées au cours de syndrômes lymphoprolifératifs et de maladies systémiques (lupus érythémateux disséminé). [17 ,19]

II. Exploration par le test à l'antiglobuline

A. Le test Direct à l'antiglobuline (TDA)

Le test de Coombs direct (TCD) a pour objectif de rechercher les anticorps ou des composants du complément fixé sur les globules rouges. In vivo, il renseigne sur la sensibilisation des globules rouges. **(Figure 6).** [21]

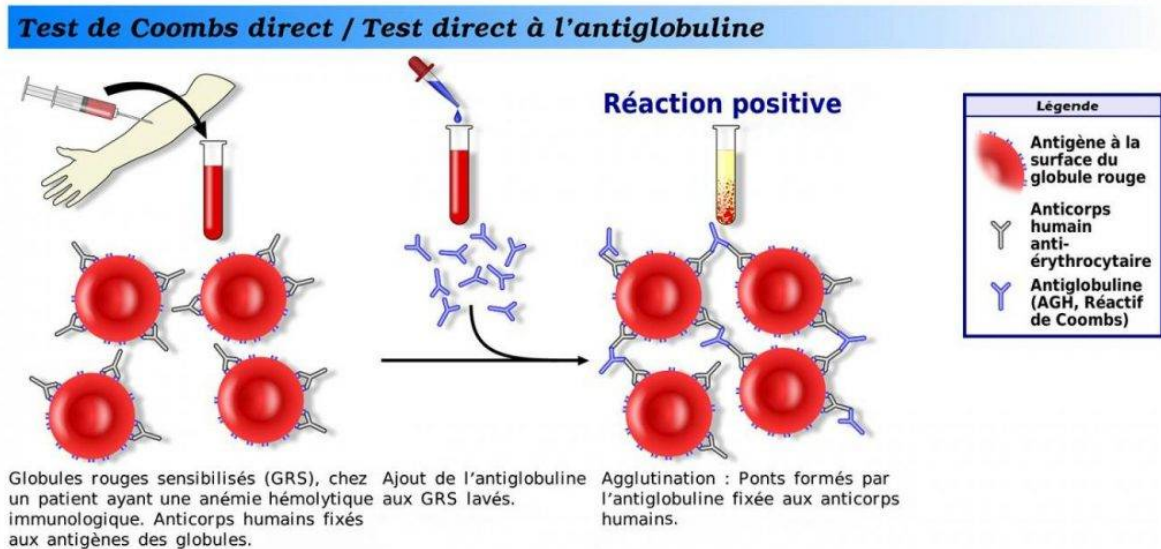


Figure 7 : Fixation des antiglobulines sur les hématies [22]

B. Le Test Indirect à l'antiglobuline (TIA)

C'est la mise en évidence de la sensibilisation des hématies in vitro par des Ac, en utilisant des anti-globulines humaines (AGH) polyvalentes. [22] **(Figure 8)**

- Lavages des hématies Par l'eau physiologique (plusieurs lavages).
- Ces hématies peuvent être selon les cas :
 - hématies test de groupe o utilisées pour la recherche d'un Ac irrégulier dans le sérum du patient.

- hématies à tester pour la recherche d'un Ag faible (D faible).
- hématies des unités à transfusées et nécessitant une comptabilisation préalable avec le sérum du malade.
- Réalisation d'une suspension à 05%.
- Incubation à 37 °C avec selon les cas (sérum du malade ou avec l'anti-D pour la recherche du D faible permettant la fixation de l'Ac à son Ag spécifique) pendant 45 min (15 min en solution liss).
- Lavage des hématies. • Ajout de l'AGH polyvalente.
- Centrifugation à faible vitesse.
- Présence d'agglutination Coombs indirect : Test positif
- Absence d'agglutination Coombs indirect : Test négatif

Le test de Coombs indirect se fait, entre autres, dans les situations suivantes :

- Test de compatibilité majeur : plasma/sérum du receveur et hématies du donneur.
- Recherche d'anticorps irréguliers : plasma/sérum du patient et hématies d'un panel (antigènes connus).
- Recherche d'un phénotype érythrocytaire : érythrocytes du patient et antisérum connu (anticorps connus).

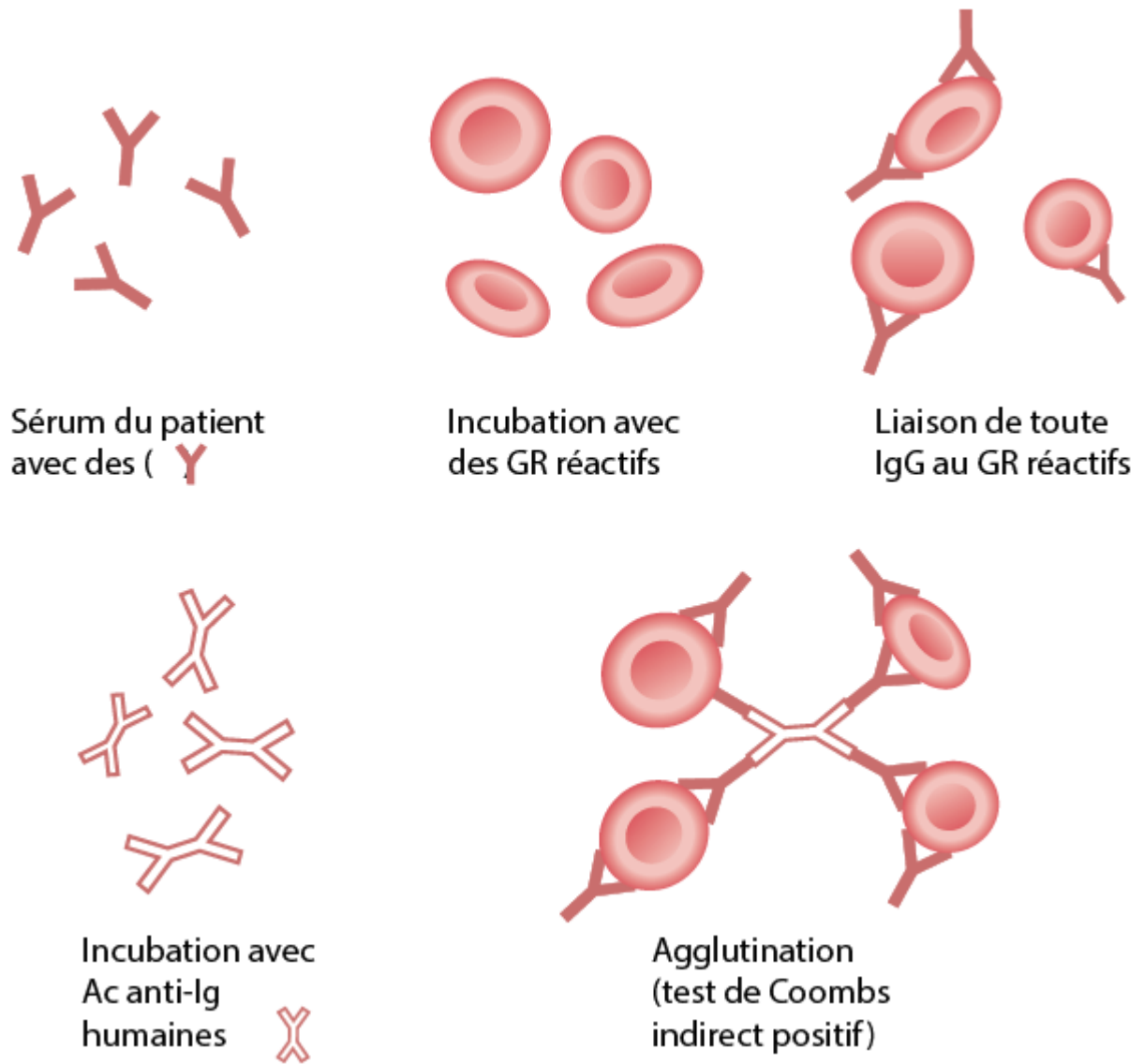


Figure 8 : Détection des anticorps anti-érythrocytaires dans le sérum [20 ,21]

- **Recherche d'agglutinines irrégulières.**

Cette recherche se fait en deux étapes :

- ❖ **Dépistage**

Panel de dépistage : au moins 3 hématies-tests de groupe O.

Permet de détecter, jamais d'identifier.

Réponse : présence ou absence d'anticorps irréguliers (allo-anticorps)

- ❖ **Identification**

Au cours du dépistage, si le résultat est négatif, la RAI est aussi négative, Au contraire, s'il est positif, une identification est devenue primordiale. L'identification est réalisée avec une gamme d'hématies-tests de groupe O, de répartition antigénique définie et réglementée également avec des antigènes et des phénotypes obligatoires, comportant au minimum 10 hématies ; le nombre d'hématies-tests doit, le plus souvent, être complété par des hématies informatives de manière à effectuer l'identification dans les conditions réglementaires et en toute sécurité. [21,22]



Matériel et Méthode

1. Rappel des objectifs :

1.1. Objectif principal

Intérêt du test à l'antiglobuline dans le diagnostic des anémies hémolytiques auto-immun.

2. Matériels et méthodes.

2.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective de trois cas cliniques ont été pris en charge et suivie pour l'anémie hémolytique auto-immune au sein de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V.

2.2. Population d'étude

Patients hospitalisés au niveau du de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V. ayant nécessité un test de Coombs direct et indirect.

2.3. Période d'étude

L'étude a été réalisée sur une période de 1 mois (du 1er Février 2018 au 31 Mars 2018).

2.4. Moyens matériels

Le matériel nécessaire pour la réalisation de TDA et TIA est le suivant :

- ✓ Les cartes gel à anti-IgG + C3d. (figure 9)
- ✓ Suspension humaine des hématies (ID-DiaCellII-II-III). (Figure 10)
- ✓ Un incubateur et une centrifugeuse. (Figure 11 : (a) et (b)).
- ✓ Table d'antigènes pour les (ID-DiaCellII-II-III). (Figure 12).

- ✓ Ensemble de 11 flacons des hématies utilisé pour l'identification d'un test RAI positif. (Figure 13)
- ✓ Table d'antigènes des 11ID-DiaPanel pour l'identification d'un test RAI positif. (Figure 14)



Figure 9 : carte gel à anti IgG + C3d

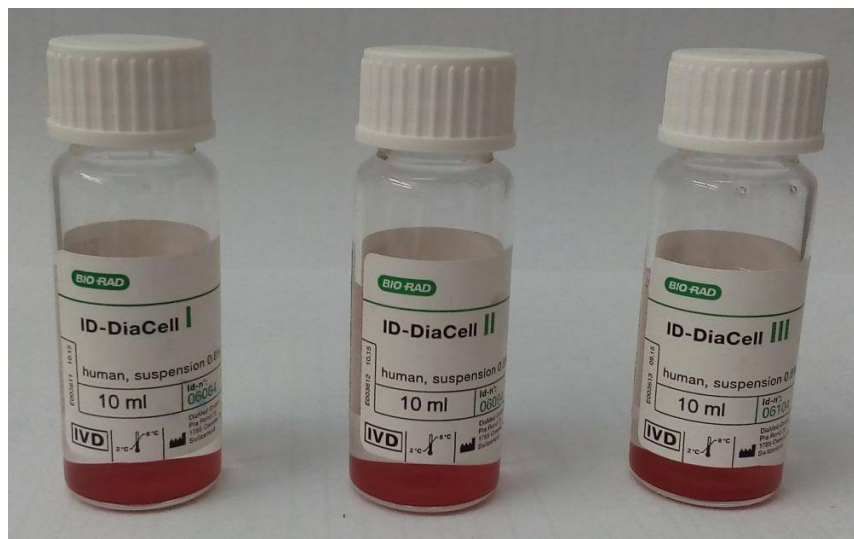


Figure 10 : suspension humaine des hématies (ID-DiaCell-I-II-III)



(a)

(b)

Figure 11 : (a) – incubateur, et (b) – centrifugeuse

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes / Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antígenos

Rh-hr	Möglicher Genotyp Probable Genotype Genotype probable Probabile genotipo Genotipo probable Genótipo provável	Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Rh-hr			Kell					Duffy	Kidd	Lewis	P	MNS			Luth.	Xg											
			D	C	E	c	e	C ^k	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a	Xg ^b	
I	CCC ^W D.ee	R ₁ ^W R ₁	962702	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+
II	ccD.EE	R ₂ R ₂	526610	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	nt	nt	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+
III	ccddee	rr	625199	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+

Figure 12 : Table d'antigènes pour les (ID-DiaCellI-II-III)



Figure 13 : l'ensemble de 11 flacons des hématies utilisées pour l'identification d'un test RAI positif.

Rh-hr	Möglicher Genotyp Probable Genotype Genotipo probable Genotipo probabile Genotipo provável	Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Antigen-Table / Table d'antigènes / Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antígenos / Identificación del anticuerpo / Identificação do anticórpore / Antibody identification / Identification d'anticorps / Identificazione anticorpale / Identificação anticorpale																				Spez. Antig. Special typ Antigènes Antígenos Otros Ant. Tipos esp.						
			D	C	E	c	e	C*	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P	M		N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg
1	CCC ^W D.ee R ₁ W _R ₁	067740	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	CCD.ee R ₁ R ₁	179845	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	ccD.EE R ₂ R ₂	345934	(+)	0	+	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Ccddee r'r	101019	0	+	+	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	ccddEe r''r	702677	0	0	+	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	ccddee rr	452608	0	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	ccddee rr	504006	0	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	ccD.ee R ₀ r	779032	(+)	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	ccddee rr	038226	0	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	ccddee rr	235806	0	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	ccddee rr	252600	0	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Figure 14 : Table d'antigènes des 11ID-DiaPanel pour l'identification d'un test RAI positif.

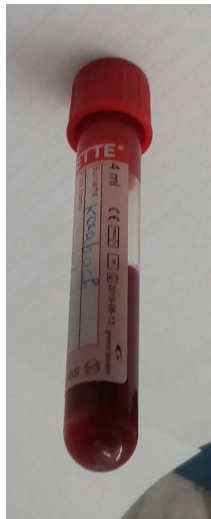
2.5. Méthodes

2.5.1. Phase pré-analytique

2.5.1.1. Prélèvement

Le prélèvement s'effectue au lit du malade par un(e) infirmier(e) après avoir vérifié la prescription médicale et la concordance entre celle-ci et le choix des tubes d'analyses.

- Pour le test Direct à l'antiglobuline on utilise un tube contenant l'EDTA.
- Pour le Test indirect à l'Antiglobuline on utilise un tube sec sans anticoagulant.



Tube sec



Tube à EDTA

2.5.1.2. Circuits des échantillons

Les échantillons sont acheminés au laboratoire d'immuno-hématologie par des infirmiers.

2.5.1.3. Conservation et transport

Le prélèvement est acheminé au laboratoire en vue d'être analysé le plus tôt possible ou conservé dans un délai maximal de 48 heures à +4-8C° après le prélèvement.

2.5.1.4. Centrifugation

Tous les échantillons ont subi une centrifugation à 4000 tours/min pendant 3 min avant d'être analysés.

2.6. Phase analytique

Le TDA et le TIA utilise plusieurs techniques, chaque technique à son intérêt et ses limites de détections :

❖ **Technique Saline**

Cette technique n'est pas utilisée en routine

❖ **Technique microplaque (Immunoadhérence)**

La recherche des anticorps irréguliers s'effectue sur les microplaques dans lesquelles les hématies tests sont fixées. Le sérum ou plasma du patient est ensuite incubé dans cette plaque à 37°C. Les cupules sont ensuite lavées. Seuls les anticorps fixés sur les hématies tests restent dans les cupules. Afin de révéler la présence de ces anticorps, on y ajoute une antiglobuline de type IgG qui se fixe sur des hématies révélatrices. Après centrifugation, une réaction positive est observée lorsque les hématies révélatrices restent sur les parois des cupules. Une réaction négative est déterminée lorsque tous les globules rouges se retrouvent au fond de la cupule [8].

❖ **Technique Enzymatique**

Les fragments polypeptidiques qui appartiennent aux glycoprotéines sont libérés par des enzymes protéolytiques, d'origine animale ou végétale. Les hématies ainsi traitées sont alors agglutinables par les anticorps IgG normalement non agglutinants ; par exemple, les globules rouges traités par les enzymes sont agglutinés par l'IgG anti-RH1 ; cette est une caractéristique non liée au démasquage de nouveaux déterminants antigéniques [22].

La technique la plus utilisée est **la technique par filtration sur carte gel**.

Cette technique est utilisée, autant en technique manuelle, que par les automates. Cette technique nécessite l'utilisation d'une cassette constituée d'une micro-cupule surmontant une colonne de filtration. Cette colonne de filtration contient des microbilles ou du gel.

Après ajout le plasma ou le sérum du malade dans la cupule au contact des globules rouges du panel de dépistage ou d'identification, la cassette est mise dans un milieu de température égale à 37°C, puis centrifugée. Lors de cette centrifugation, les globules rouges sont dirigés au fond de la colonne de filtration. Pendant cette phase de migration, les hématies possédant un complexe immun antigène-anticorps vont être bloquées par les billes ou le gel. Ils ne vont donc pas atteindre le fond de la colonne.

Une antiglobuline humaine polyvalente (anti-IgG et anti-complément) ou une antiglobuline anti-IgG peuvent être contenue dans les colonnes de filtration. Selon l'antiglobuline utilisée, les anticorps à identifiés sont différents [21 ,22].

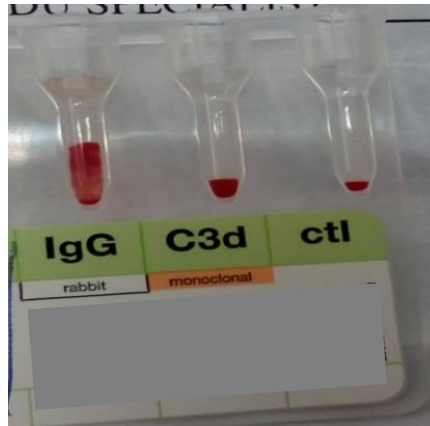


Figure 3 : Le test à l'antiglobuline sur carte gel

3. Test à l'antiglobuline direct (TAD)

3.1. Principe

Le TAD a son objectif de mettre en évidence la sensibilisation des globules rouges par des anticorps et/ou de protéine du complément par agglutination in vitro à l'aide d'antiglobuline polyspécifique (anti-IgG et anti-C3d).

Si le résultat est positif, une antiglobuline monoclonale spécifique (anti-IgG, anti-C3d, anti-IgM voir anti-IgA) est utilisé pour déterminer la nature de la protéine responsable.

3.2. Technique

La réalisation de ce test suit les étapes suivantes :

- Après le prélèvement du sang du patient sur un tube à EDTA on prend avec une micropipette 150 µl des hématies.
- Centrifugation pour séparer les deux phases plasma et le culot qui contient les hématies.

- Elimination du plasma et on récupère le culot qui contient les Hématies car ce test est directement réalisé à partir des hématies.
- Lavage des hématies 6 fois pour se débarrasser des immunoglobulines plasmatiques.
- Préparation d'une suspension des hématies de 5% dans un tube avec de l'eau physiologique.
- Les hématies du patient sont ajoutées et brièvement incubés dans la chambre de réaction.
 - ❖ Lecture de résultats et interprétation du test :

Un test Positif :

Le TDA est considéré comme un test semi-quantitatif. Sa positivité s'exprime par présence d'un taux variable d'AC (auto- ou allo-anticorps) et/ou de C (C3) fixés sur les hématies du malade. Si le TDA est positif, il convient d'une part de préciser sa spécificité (IgG et/ou C3, IgA) et d'autre part d'apprécier l'intensité de l'agglutination.

- Si la détection des auto-anticorps de types IgG sans facteur de complément est positive, dans ce cas-là, il s'agit d'un auto-anticorps de type IgG qui n'active pas le complément.
- Si par contre le test détecte le facteur de complément ; il s'agit d'un auto-anticorps qui active le complément.
- Les auto-anticorps de l'isotype IgM ne sont pas facile à révéler vu qu'en raison de leur taille pentamère, ils sont souvent éliminés par lavage pendant l'exécution du test.

Un test **Négatif** est caractérisé par l'absence de d'agglutination. [22]

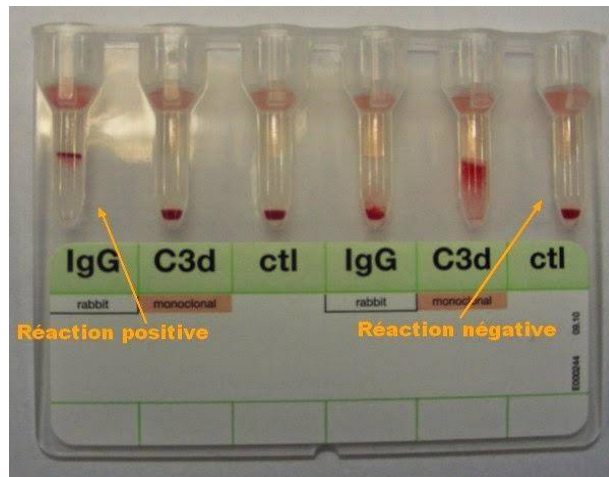


Figure 4 : Présence et absence d'agglutination dans le cas TDA

A propos des cas cliniques

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective d'un cas clinique qui a été pris en charge et suivie pour l'anémie hémolytique auto-immune au sein de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V.

PATIENTEN° 1

Il s'agit d'une patiente âgée de 27ans, hospitalisée au sein du service de Néphrologie-Hémodialyse pour un syndrome Néphrotique et une insuffisance rénale chronique avec des signes extrarénaux et selon la prescription de son médecin, on a réalisé un test de Coombs direct et on a obtenu les résultats suivants :



Figure 5 : Présence d'agglutination dans le cas TDA



Résultat

C'est un test de Coombs direct positif caractérisé par une agglutination formée par l'antiglobuline fixé aux Anticorps humain.

D'après les résultats biologiques obtenues, les renseignements cliniques du malade et d'autres tests complémentaires, ils ont résumé qu'il s'agit d'une maladie lupique retenue selon les critères de L'ACR à tropisme articulaire, cutané hématologique et rénal.

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une des principales maladies Auto-immunes systémiques, Cette affection est caractérisée par un important polymorphisme clinique marqué essentiellement par des signes rhumatologique, dermatologique, hématologique et Néphrologique.

La révélation de LED par le test de coombs n'est pas rare. Néanmoins, ce test n'implique pas une AHAI. Il est normalement induit par des complexes Immuns faisant intervenir la fraction C3d du complément.

Une anémie hémolytique idiopathique peut précéder l'apparition de signe de lupus, elle survient au cours de l'évolution d'un lupus connu. Il semble exister un véritable spectre d'affection entre le lupus et l'AHAI.

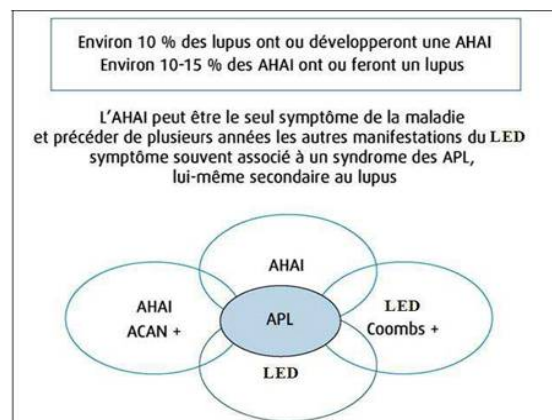


Figure 11 : Les AHAI et le Lupus [23]

1. Test Indirect à l'antiglobuline/Recherches d'anticorps irréguliers (RAI).

1.1. Le Dépistage des recherches d'anticorps irréguliers (RAI)

- 1- Après un prélèvement du sang du patient sur un tube sec on prend avec une micropipette 150 µl du sérum, 50 µl pour chacun des 3 micros-colonnes de la carte gel. Et mentionner le nom du patient.
- 2- Ensuite on ajoute dans l'ordre 50 µl de chaque flacon de la suspension humaine des hématies (ID-DiaCellII-II-III), c'est un dépistage à 3cellules pour les patients. Il contient un ensemble de 3 flacons pour le test TIA et NaCl. Ces cellules possèdent une double dose d'antigènes. Il a été testé par sérologie pour les Ag de classe 1 de HLA.
- 3- En fin on met les cartes gel dans l'incubateur pendant 15 min à une température de 37°C (condition physiologique) pour favoriser la fixation des anticorps sur les antigènes des hématies, puis dans la centrifugeuse pendant 15 min.

4- Lecture des résultats à la fin du test : deux possibilités

Soit le test est positif, dans ce cas les globules rouges sont piégés dans le gel. (Fig.12)

Soit le test est négatif, dans ce cas les globules rouges traversent le gel et forment un culot au fond du tube. (Fig.13)

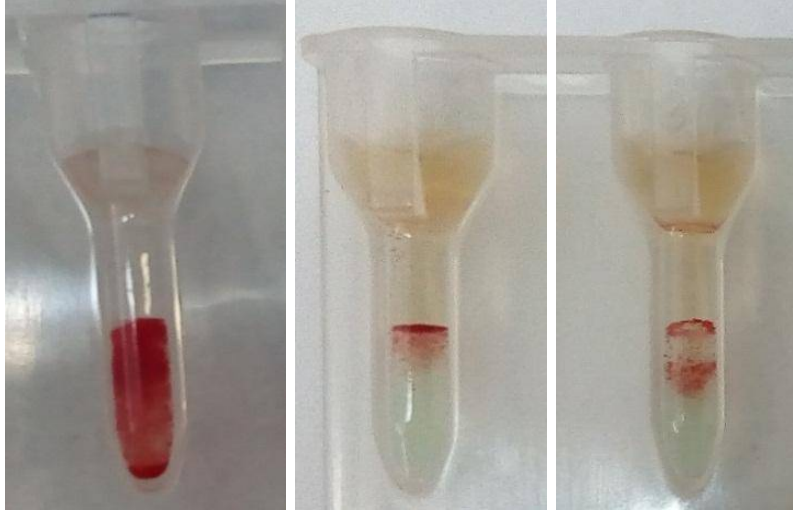


Figure 6 : Agglutination des globules rouges TIA (+).

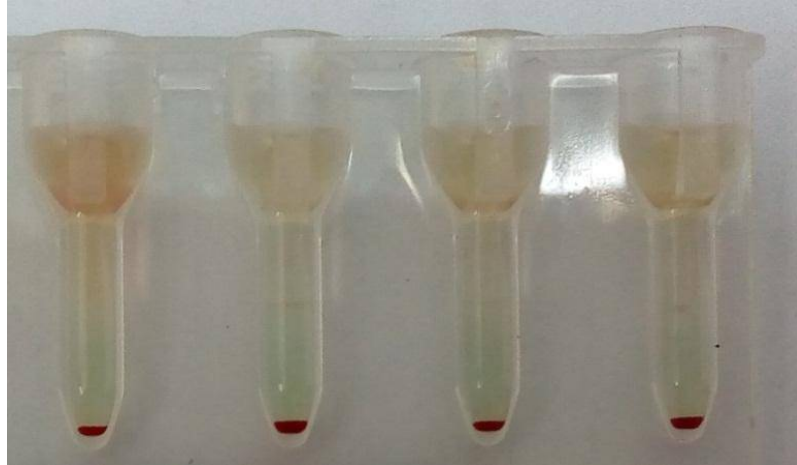


Figure 7 : TIA (-) absence d'agglutination

Lorsque le test est positif on peut connaître qu'elle système d'anticorps responsable à cette agglutination par la table d'antigènes spécifique au ID-DiaCellII-II-III (figure 14).

Rh-hr		Spender		Rh-hr		Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P			MNS			Luth.		Xg						
Möglicher Genotyp Probable Genotype Genotipo probable Probabile genotipo Genotipo provável		Donneur Donneur Donante Donante Dador		D	C	E	c	e	C ⁺	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ⁺	M	N	S	s	L ^u	L ^f	Xg ^a	Xg ^b
I	CCC ^W D.ee	R ₁ ^W R ₁	962702	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+
II	ccD.EE	R ₂ R ₂	526610	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+
III	ccddee	rr	625199	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+

Figure 8 : Table d'antigènes des ID-DiaCellII-II-III.

1.2. L'identification

Lorsque le test de dépistage est positif, il faut réaliser l'identification de la spécificité du ou des anticorps présents, par un panel d'identification constituer de 11 hématies-tests phénotypées dans tous les systèmes de groupes sanguins connus.



Figure 9 : L'ensemble de 11 flacons des hématies utilisées pour l'identification d'un test RAI positif

Rh-hr	Spender Donor	Rh-hr	Kell											Duffy			Kidd			Lewis			P			MNS			Luth			Xg		
			D	C	E	c	e	C'	K	k	Kp ^a	Kp ^b	3r	3y	3z	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	Le ^x	P	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Lu ^c	Mg ^a	Mg ^b	Mg ^c	
1	CCC ^M D.ee R ₁ ^M R ₁	067740	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
2	CCD.ee R ₁ R ₁	179845	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
3	ccD.EE R ₂ R ₂	345934	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
4	Ccddee r'r	101019	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
5	ccddEe r'r	702677	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
6	ccddeee rr	452608	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+
7	ccddeee rr	504006	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+
8	ccD.ee R ₂ r	779032	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	
9	ccddeee rr	038226	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+
10	ccddeee rr	235806	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+
11	ccddeee rr	252600	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+

Figure 10 : Table d’antigènes des 11ID-DiaPanel pour l’identification d’un test RAI positif.

A propos des cas cliniques

Il s’agit d’une étude descriptive, rétrospective de deux cas cliniques ont été pris en charge et suivie pour l’incompatibilité fœto-maternelle et de la maladie hémolytique du nouveau-né aux seins Hôpital Militaire d’Instruction Mohammed V.

PATIENTE N°2 :

Pour la 1^{ère} patiente, elle s'agit d'une femme de 35 ans sans aucun antécédent transfusionnel, elle était enceinte et a réalisé un test RAI avant l'accouchement, le résultat était négatif, après l'accouchement on a refait le test et il est positif. La patiente était traitée par l'anti-D avant et après l'accouchement.

-Après le prélèvement du sang de la patiente dans un tube sec, afin de récupérer le sérum, on a réalisé une étape de dépistage par panel de 3 hématies test O de phénotype connu et on a trouvé les résultats suivants :



Rh-hr		Möglicher Genotyp Probable Genotype Genotype probable Probabile genotipo Genotipo probable Genótipo provável	Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Rh-hr					Kell					Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS			Luth.		Xg				
I	II	III		D	C	E	c	e	C ⁺	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ⁺	Xg ⁻
I	CCC ^W D.ee	R ₁ ^W R ₁	962702	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+
II	ccD.EE	R ₂ R ₂	526610	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	nt	nt	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+
III	ccddee	rr	625199	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+

Interprétation 1 :

On a obtenu un résultat positif (agglutination) dans les 3 micro-colonnes, d'après la table d'antigènes, cette agglutination est due à la présence des Ac du système Kell dans le sérum de la patiente. Pour vérifier ces résultats on a réalisé un test d'identification avec 11 hématies et on a obtenu les résultats suivants :



Rh-hr	Migueler Genotype	Spender Donor	Rh-hr	D	C	E	c	e	C ^w	K	k ¹	k ²	Jel ¹	Jel ²	Fy ^a	Fy ^b	Kell	Lewis ^x	P	MNS	S	Luth	Xg	
1	CCC ^w D.ee R ₁ W _{R1}	067740	⊕	+	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+
2	CCD.ee R ₁ R ₁	179845	⊕	+	0	0	+	+	+	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+
3	ccD.EE R ₂ R ₂	345934	⊕	0	+	0	0	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Ccddee r ⁻ r	101019	0	0	+	0	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	ccddEe r ⁻ r	702677	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	ccddee rr	452608	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	ccddee rr	504006	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	ccD.ee R ₁ r	779032	⊕	0	0	+	0	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	ccddee rr	038226	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	ccddee rr	235806	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	ccddee rr	252600	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Interprétation 2 :

D'après les résultats obtenus dans le test d'identification on a assuré que le système d'anticorps présent dans le sérum du patient est le système Kell et plus précisément les anti-kp^b(agglutination sur tous les micro-colonnes).

PATIENT 3 :

-La collecte de l'information pour cette patiente était incomplète par manque de données sur le dossier médical. Ce qui nous a empêchés de chercher des relations avec d'autres facteurs tel que la grossesse et la transfusion sanguine.

-On ne pouvait pas vérifier l'exactitude des informations qui ont été recueillies en rétrospectif

-Après la réalisation d'un dépistage par panel de 3 hématies test O de phénotype connu pour la patiente 2 on a obtenu les résultats suivants

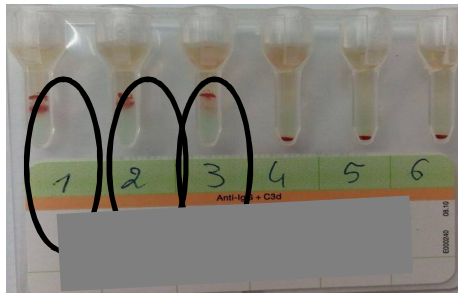


Antigen-Tabelle / Antigen-Table

Rh-ir	Möglicher Genotyp	Spender	Rh-ir						
			Probable Genotype	Donor	D	C	E	e	C'
I	CCC ^w D.ee	R ₁ ^w R ₁	962702	+	+	0	0	+	+
II	ccD.EE	R ₂ R ₂	52610	+	0	+	+	0	0
III	ccddee	rr	625109	0	0	0	+	+	0

Interprétation 1 :

On a obtenu un résultat positif (agglutination) dans les deux 1^{ères} micro-colonnes, d'après la table d'antigènes cette agglutination est due à la présence des Ac du système Rh dans le sérum de la patiente. Pour vérifier ces résultats on a réalisé un test d'identification avec 11 hématies-tests et on a obtenu les résultats suivants :



Rh-hr	Möglicher Genotyp	Probable Genotype	Spender Donor	Rh-hr	Kell	Duffy	Kidd	Lewis	P	MNS	Luth.	Xg	Spez. Antigen																
Rh-hr	Probable Genotype	Probable Genotype	Donneur Donator	E	c	e	C'	K	k	Kp	Kq	Jsa	Jsb	Fy	Fy	Jk	Jk	Le ^a	Le ^b	P	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg	Spez. Antigen	
1	CCC ^w D.ee R ₁ ^w R ₁	R ₁ ^w R ₁	067740	+	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
2	CCD.ee R ₁ R ₁	R ₁ R ₁	179845	+	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
3	ccD.EE R ₂ R ₂	R ₂ R ₂	345934	+	0	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
4	Ccddee r'r	r'r	101019	0	+	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
5	ccddEe r'r	r'r	702677	0	0	+	0	+	0	+	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
6	ccddee rr	rr	452608	0	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
7	ccddee rr	rr	504006	0	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
8	ccD.ee R-r	R-r	779032	+	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
9	ccddee rr	rr	038226	0	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
10	ccddee rr	rr	235806	0	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
11	ccddee rr	rr	252600	0	0	0	+	0	+	0	+	nt	nt	+	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	

Interprétation 2 :

On a obtenu dans le test d'identification, une agglutination sur les microcolonnes N° 1, 2,3et 8 ce qui assure la présence des Ac du système Rh et plus précisément les anti-D.

Le test sérique détecte la présence des auto-anticorps dans le sérum de la patiente et non fixé sur les antigènes des hématies. Il est caractérisé par sa possibilité d'être spécifique et précise le type d'Ac fixé soit IgG ou C3d.



Discussion

Par définition, l'AHAI désigne une anémie secondaire à la destruction des GR par des anticorps (Ac) dirigés contre les propres antigènes (Ag) membranaires non modifiés des globules rouges du patient. Elles peuvent être idiopathiques ou révéler ou compliquer l'évolution de plusieurs affections en particulier dysimmunitaires. L'AHAI peut engager le pronostic vital avec une mortalité globale chez l'adulte comprise entre 8% et 15% selon les séries rapportées récemment dans la littérature.

Cette maladie touche toutes les tranches d'âge et il existe des spécificités liées à chaque tranche d'âge tant sur le plan de l'abord diagnostique que pour la prise en charge thérapeutique. [1,10].

Le diagnostic d'AHAI se fait par la révélation d'auto-anticorps anti-érythrocytaires par l'utilisation d'un test direct à l'antiglobuline (TDA) (PATIENTE N°1).

Un certain nombre d'examen complémentaires se justifie à la recherche d'une maladie sous-jacente surtout si le diagnostic d'AHAI est confirmé : comme dans notre exemple du lupus systémique (patiente1). [21]

Le test indirect à l'antiglobuline ou TIA est un test sérique, permettant de dépister des Ac présents dans le sérum maternel. C'est un test réalisé en deux étapes, d'où son nom de Coombs indirect. Le test peut s'appliquer à la recherche d'agglutinines irrégulières.

L'exemple choisi est celui des anticorps anti-D (Rhesus) (PATIENTE N°3).

La forme la plus typique de l'allo-immunisation fœto-maternelle et de la maladie hémolytique du nouveau-né est celle due à l'antigène Rh(D) avec une mère Rh- porteuse d'un enfant Rh+.

Ces anticorps (Ac) anti-Rhésus ont pu être synthétisés à la suite de différents types d'immunisation :

- ✓ Une immunisation transfusionnelle :

Une femme Rh- est transfusée avec du sang Rh+. Une femme Rh- est transfusée avec du sang Rh+. Cette injection de sang incompatible a un potentiel d'immunisation très élevée : une seule injection provoque la formation d'Anticorps dans 50% des cas.

- ✓ Une immunisation transplacentaire :

En fin de grossesse, des hématies fœtales peuvent traverser la barrière placentaire et ainsi stimuler le système immunitaire de la mère. Ce type d'immunisation n'apparaît que chez 5% des femmes Rh- porteuses d'un enfant Rh+.

Ces Ac immuns, de nature IgG, sont capables de traverser la barrière placentaire, de se fixer sur les globules rouges de l'enfant et d'entraîner leur lyse. Cette hyper hémolyse va entraîner :

- ✓ Une anémie profonde avec risque d'insuffisance cardiaque, œdèmes généralisés et anasarque foetoplacentaire pouvant conduire à la mort de l'enfant.
- ✓ Une hyperbilirubinémie, avant la naissance,



Conclusion

La recherche des anticorps irréguliers (RAI) anti-érythrocytaires est une technique importante en immunohématologie. Elle permet d'assurer la sécurité transfusionnelle et un suivi immuno-hématologique de la femme enceinte. Il est important de respecter, aussi bien par les prescripteurs que par les biologistes, les règles et les recommandations relatives à la prescription et à l'exploitation des résultats de cette analyse que ce soit en pré- ou en post-transfusionnel.

Le test direct à l'antiglobuline atteint son intérêt dans les AHAI en plus des anémies déclenchées par un conflit immunologique.

Le test indirect à l'antiglobuline est d'un intérêt principal dans les anémies hémolytiques.



Résumé

RESUME

Titre : APPORT DU TEST DE COOMBS DANS LE DIAGNOSTIQUE DES AHAI

Auteur : Taoufik LAHLOU.

Mots clés : Anémie Hémolytique, Anémie Hémolytique auto-immune, Incompatibilité Foeto-maternelle, Test direct à l'antiglobuline, Test indirect à l'antiglobuline.

Le vocable « anémie hémolytique » englobe différents types d'anémie où les globules rouges sont détruits prématurément dans le sang. Le terme « hémolyse » signifie destruction des globules rouges. L'anémie apparaît lorsque le taux de destruction des hématies dépasse la capacité régénérative de la moelle osseuse. L'une des causes de cette anémie hémolytique sont les anémies hémolytiques extracorporelles, qui sont dominées par les hémolyses immunes (Allo-immunisation ou auto-immunisation).

L'exploration des Anémies Hémolytiques au laboratoire repose sur une série d'analyse complémentaire où le test à l'antiglobuline occupe une place prépondérante dans le diagnostic différentiel entre les différentes étiologies des anémies hémolytiques dues à un conflit immunologique.

Le test direct à l'antiglobuline trouve son intérêt dans les Anémie Hémolytiques Auto-immunes et le test indirect à l'antiglobuline trouve son intérêt dans le cas de l'incompatibilité foeto-maternelle et de la maladie hémolytique du nouveau-né.

SUMMARY

Title : CONTRIBUTION OF THE COOMBS TEST IN THE DIAGNOSIS OF AHAI

Done by : Taoufik LAHLOU.

Keywords : Hemolytic anemia, Autoimmune hemolytic anemia, Maternal-foetal incompatibility, Direct antiglobulin test, Indirect antiglobulin test.

The term “hemolytic anemia” encompasses different types of anemia where red blood cells are destroyed prematurely in the blood. The term "hemolysis" means destruction of red blood cells. Anemia occurs when the rate of destruction of red blood cells exceeds the regenerative capacity of the bone marrow. One of the causes of this hemolytic anemia is extracorporeal hemolytic anemia, which is dominated by immune hemolysis (Alloimmunization or autoimmunization).

The exploration of hemolytic anemias in the laboratory is based on a series of complementary analyzes where the antiglobulin test occupies a preponderant place in the differential diagnosis between the different etiologies of hemolytic anemias due to an immunological conflict.

The direct antiglobulin test is of interest in Autoimmune Hemolytic Anemia and the indirect antiglobulin test is of interest in the case of fetal-maternal incompatibility and hemolytic disease of the newborn.

ملخص

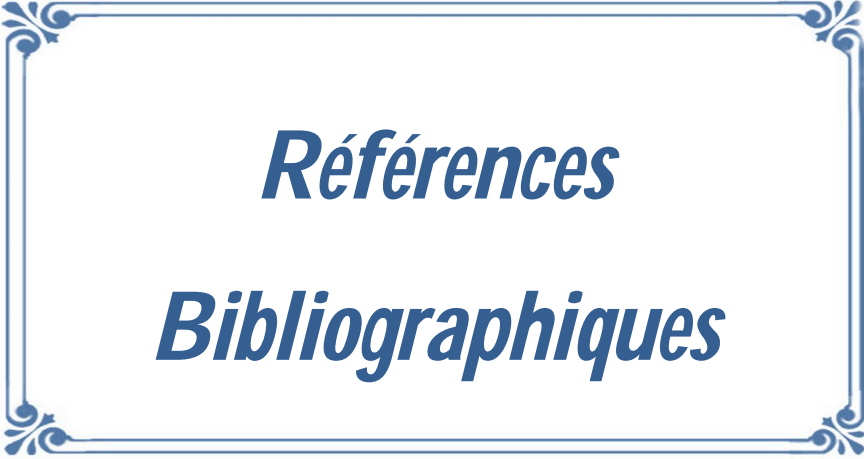
العنوان: مساهمة اختبار الكومبس في تشخيص فقر الدم الانحلالي بالمناعة الذاتية

المؤلف: توفيق لحلو.

الكلمات المفتاحية: فقر الدم الانحلالي، فقر الدم الانحلالي الذاتي، عدم التوافق بين الأم والجنين، اختبار مضاد الجلوبيولين المباشر، اختبار مضاد الجلوبيولين غير المباشر.

يشمل مصطلح "فقر الدم الانحلالي" أنواعًا مختلفة من فقر الدم حيث يتم تدمير خلايا الدم الحمراء قبل الأوان في الدم. مصطلح "انحلال الدم" يعني تدمير خلايا الدم الحمراء. يحدث فقر الدم عندما يتجاوز معدل تدمير خلايا الدم الحمراء القدرة التجديدية لنخاع العظام. أحد أسباب فقر الدم الانحلالي هذا هو فقر الدم الانحلالي خارج العقرب، والذي يهيمن عليه انحلال الدم المناعي (التمنيع الخيفي أو المناعة الذاتية). يعتمد استكشاف فقر الدم الانحلالي في المختبر على سلسلة من التحليلات التكميلية حيث يحتل اختبار مضاد الجلوبيولين مكانًا راجحًا في التشخيص التفريقي بين المسببات المختلفة لفقر الدم الانحلالي بسبب الصراع المناعي.

يعتبر اختبار مضاد الجلوبيولين المباشر ذا أهمية في فقر الدم الانحلالي بالمناعة الذاتية، كما أن اختبار مضاد الجلوبيولين غير المباشر مهم في حالة عدم توافق الأم والجنين ومرض الانحلالي عند الوليد.



Références
Bibliographiques

- [1]. **Janot C.** Immuno - hématologie et groupes sanguins. Les anémies hémolytiques auto-immunes. Bioforma – Cahiers de Formation Biologie médicale 2018; No 26: 123-135.
- [2]. **Dr François LEFRERE**, Hématologie, CHU Necker, Paris PNDS AHAI de l'adulte et de l'enfant – Actualisation Février
- [3]. **Professeur Bertrand Godeau - Professeur Marc Michel - Docteur Mehdi**, AnemieHemolytiqueAutoImmune-FRfrPub13392.pdf | Août 2019
- [4]. **Cours Faculté de médecine d'Amiens. 2018-2019.**
- [5]. Fiche d'information rédigée par les médecins de la Société Française d'Hématologie (mars 2009).
- [6]. **Philippe PL**, Diagnostic et prise en charge de l'anémie hémolytique auto-immune. Service de médecine interne, Hôtel - Dieu, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand tome 36 > no 12 > décembre 2017 > cahier 3.
- [7]. **Pr Marc MICHEL, Pr B. Godeau, Dr N. Aladjidi et Pr Y. Pérel.** PNDS AHAI de l'adulte et de l'enfant – Actualisation Février 2017.
- [8]. **Dr HAMOUDA. H.** HEMOLYSE NORMALE ET PATHOLOGIQUE syndrome. Université Ferhat Abbes1 Faculté de médecine de Sétif. Module d'hématologie – Sétif: 2020
- [9]. **Rochant H.** Anémies hémolytiques auto-immunes. Rev Prat 2016; 51: 1534-1541.
- [10]. **Pr REGRAGUI Safae.** Anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) FMPT 2020 – 2021.
- [11]. **Dr Amireche Amira.** Cours d'hémobiochimie 4ème année pharmacie. Année universitaire 2019-2020.
- [12]. **G. HANTON et P. PASTORET**, ADCC, service de virologie et d'immunologie. Faculté de Médecine vétérinaire. 2019, 15(4), 433-454.

- [13]. **Marie - Agnès Dragon-Durey, Jean Yves Cesbron, Alain Chevailler,**
Christian Drouet, Béatrice Uring-Lambert. Le système du Complément.
- [14]. **GHANDSRIS M.O et al.** Agglutinines froides, circonstances de découverte et signification en pratique Clinique. La revue de médecine interne 2004; 25:856-865.
- [15]. **I.BEN AMOR; J. GARGOURI et Michel Leporrier.** Les indications de la recherche des anticorps irréguliers (RAI) anti-érythrocytaires. N°35; Juin 2020; 33-37.
- [16]. **CORINNE CHABRIERE. Recherche des anticorps anti-érythrocytaires. Article: January 2006.**
- [17]. **F. Suarez, D. Ghez, R. Delarue, O. Hermine.** Cytopénies auto-immunes périphériques. Réanimation 14 (2005) 587–593.
- [18]. **Hall AM, Ward FJ, Shen CR, et al.** Deletion of the dominant autoantigen in NZB mice with auto-immune hemolytic anemia: effects on autoantibody and T-helper responses. Blood 2017; 110:4511-7.
- [19]. **G. sebahou, N.tubiana.** Anémies hémolytiques auto immunes
- [20]. **J Babinet – INTS – CNRGS XXVIIème Congrès de la SFTS Bordeaux 2017.**
- [21]. **Amira Sarraj, Médecin-directeur** Service Régional Neuchâtelois et Jurassien de Transfusion Sanguine CRS Journée de formation romande Neuchâtel 09.11.2018.
- [22]. **TRAVAUX PRATIQUES 4 ÈME ANNÉE PHARMACIE.**
Module hématologie. Année universitaire 2019/2020.
- [23]. **Fiche d'information rédigée par les médecins de la Société Française d'Hématologie (mars 2019).**