

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2016

THESE N°: 15

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ANEMIES
HEMOLYTIQUES AUTO IMMUNES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Hajar MARZAQ
Née le 06 Novembre 1989 à Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Anémie hémolytique auto immune – Le diagnostic biologique – Globule rouge –
Le test de Coombs.

JURY

Mr. A. GAOUZI

Professeur de Pédiatrie

PRESIDENT

Mme. M. NAZIH

Professeur d'Hématologie Biologique

RAPPORTEUR

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

JUGES

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة الآية 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSALD Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYA OUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADN AOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOU DA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOU DA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOU DI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne

Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie

Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAQUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale

Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie

Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOURIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZA OUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie *(mise en disponibilité)*
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique

Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. ESSAMRI Wafaa
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. GHADOUANE Mohammed*
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saïda*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
 Pr. ACHACHI Leïla
 Pr. ACHOUR Abdessamad*
 Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
 Pr. AMHAJJI Larbi*
 Pr. AMMAR Haddou*
 Pr. AOUI Sarra
 Pr. BAITE Abdelouahed*
 Pr. BALOUCH Lhousaine*
 Pr. BENZIANE Hamid*
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 Pr. CHARKAOUI Naoual*
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GANA Rachid
 Pr. GHARIB Noureddine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia

Réanimation médicale
 Pneumo phtisiologie
 Chirurgie générale
 Chirurgie cardio vasculaire
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Parasitologie
 Anesthésie réanimation
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Neuro chirurgie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie

Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*

Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique

Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie
Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique

Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAIKHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie

Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
 Pr. ALAMI OUHABI Naima
 Pr. ALAOUI KATIM
 Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
 Pr. ANSAR M'hammed
 Pr. BOUHOUCHE Ahmed
 Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
 Pr. BOURJOUANE Mohamed
 Pr. BARKYOU Malika
 Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
 Pr. DAKKA Taoufiq
 Pr. DRAOUI Mustapha
 Pr. EL GUESSABI Lahcen

Physiologie
 Biochimie – chimie
 Pharmacologie
 Histologie-Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Génétique Humaine
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Histologie-Embryologie
 Biochimie – chimie
 Physiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie

Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Zootchnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

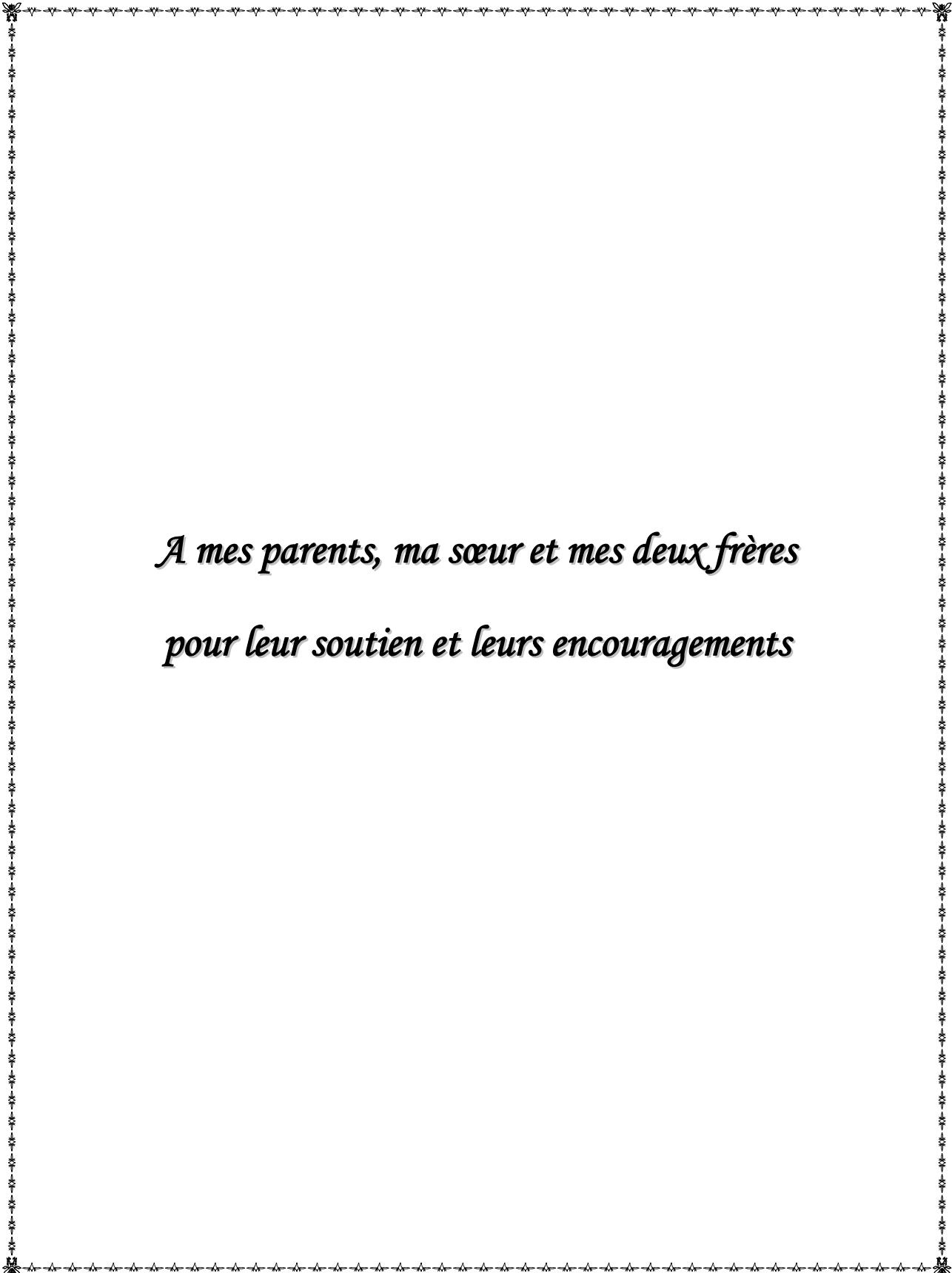
*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015

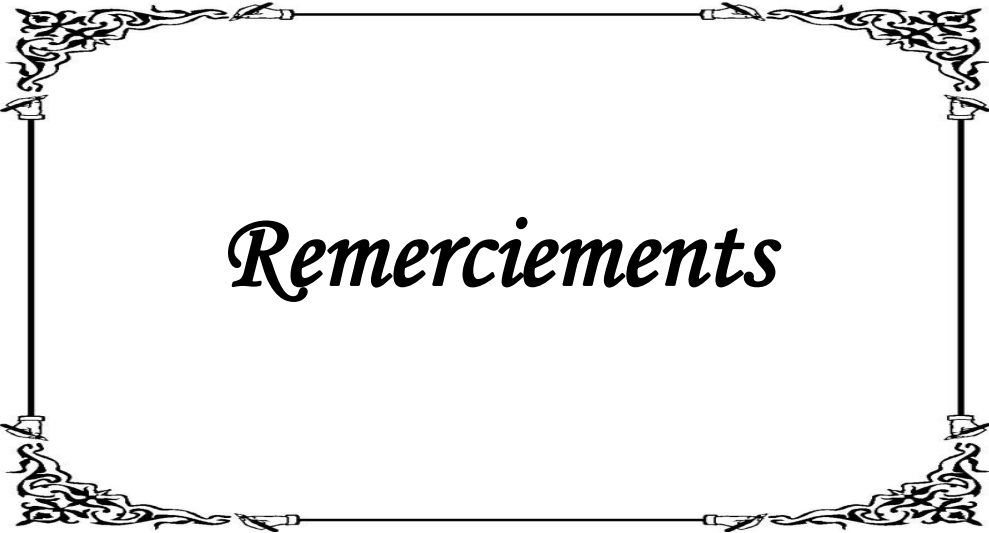




Dédicaces



*A mes parents, ma sœur et mes deux frères
pour leur soutien et leurs encouragements*



A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le professeur Ahmed GAOUZI

Professeur de Pédiatrie

Si votre présidence du jury de cette thèse est pour nous un grand honneur, elle confirme les qualités professionnelles et humaines que reconnaissent tous les étudiants et résidents qui sont passés par votre service.

Votre compétence, votre rigueur et votre profond humanisme font de vous un modèle d'éducateur.

Ce petit mot ne pourra certainement pas refléter nos sentiments et notre gratitude, mais soyez assurée que vos efforts envers les malades, les étudiants et les résidents les touchent profondément.

Vous pouvez vous enorgueillir d'avoir accompli votre devoir d'éducateur.

Nous vous renouvelons, notre profonde estime et admiration pour ce que vous êtes.

A MON MAITRE ET RAPORTEUR DE THESE

Madame le professeur Mona NAZIH

Professeur d'Hématologie biologique

Malgré vos multiples obligations, vous avez accepté d'encadrer ce travail; nous vous en sommes profondément reconnaissants.

Vos orientations ont permis à ce travail de voir le jour; vos remarques judicieuses ont permis de l'affiner.

Ce travail, c'est le votre; il serait incongru de vous en remercier.

Croyez seulement à notre sincère reconnaissance pour votre gentillesse et votre disponibilité

A MON MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame le Professeur Sakina ELHAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

Vous avez accepté de siéger parmi le jury de notre thèse. Ce geste dénote non seulement de votre gentillesse mais surtout de votre souci du devoir envers vos étudiants.

Veillez accepter Monsieur le Professeur, ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères.

Soyez assuré que c'est une fierté pour nous de vous compter parmi les membres de notre jury.

A MON MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame le professeur Saïda TELLAL

Professeur de Biochimie

Merci d'avoir accepté de siéger parmi notre jury.

*Merci pour votre compétence qui n'a d'égale que votre
gentillesse.*

Merci pour profond humanisme.

Merci pour votre disponibilité.

ABREVEATION

AHAI : Anémie hémolytique auto-immune

GR : Globule rouge

RH : Rhésus

Ig : Immunoglobuline

LED : Lupus érythémateux disséminé

AF : Agglutinine froid

LLC : Leucémie lymphoïde chronique

Th : T helper

IL : Interlukine

CAM : Complexe d'attaque membranaire

Fc : Fraction cristallisable

Fab : Fragment antigène binding

C : complément

TDA : Test direct à l'antiglobuline

NK : Natural Killer

VGM : Volume globulaire moyen

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

LDH : Lactate déshydrogénase

BNC : Bilirubine non conjuguée

MHNN : Maladie hémolytique du nouveau né

AGH : Antiglobuline humaine

GBEA : Guide de bonne exécution des analyses

DP : Double population

CIQ : Contrôle interne de qualité

RAI : Recherche d'agglutinine irrégulier

TIA : Test indirect l'antiglobuline

AAF : Auto-anticorps froid

AD : Adulte

NNé : Nouveau né

DTT : Dithiotreitol

GLOB : Globulaire

QBD : Qualification biologique du don

SR : Sérum reconstitué

SAB : Sérum AB

HTP : Hématies tests papainisées

PCH : Hémolyse froide paroxystique

EDTA : Acide éthylène diamine tétracétique

Anti-MCH : Anticorps anti Mélanine concentrating hormone

EDCL : Epreuve directe de compatibilité au laboratoire

TP : Tampon phosphate

ALPS : Syndrome lymphoprolifératif auto-immun

IPEX : Déreglement immunitaire polyendocrinopathie, entéropathie lié à l'X

NAI : Neutropénie auto-immune

PTI : Purpura thrombopénique idiopathique

SE : Syndrome d'Evans

LMNH : lymphome non hodgkinien

PTT : purpura thrombopénique thrombopathique

MAT : Micro angiopathie thrombotique

ACD : Anémie dysérythroïtique congénitale

HEMPS : Hereditary Erythroblastic Multinuclearity with positive acidified serum-test

Souris NZB : Souris New Zealand Black

HPF : Hémoglobinurie paroxystique à frigore

PTAI : Purpura thrombopénique auto-immune

IS : Immunosuppresseur

MCAF : Maladie chronique des agglutinines froides

IFN : Interféron

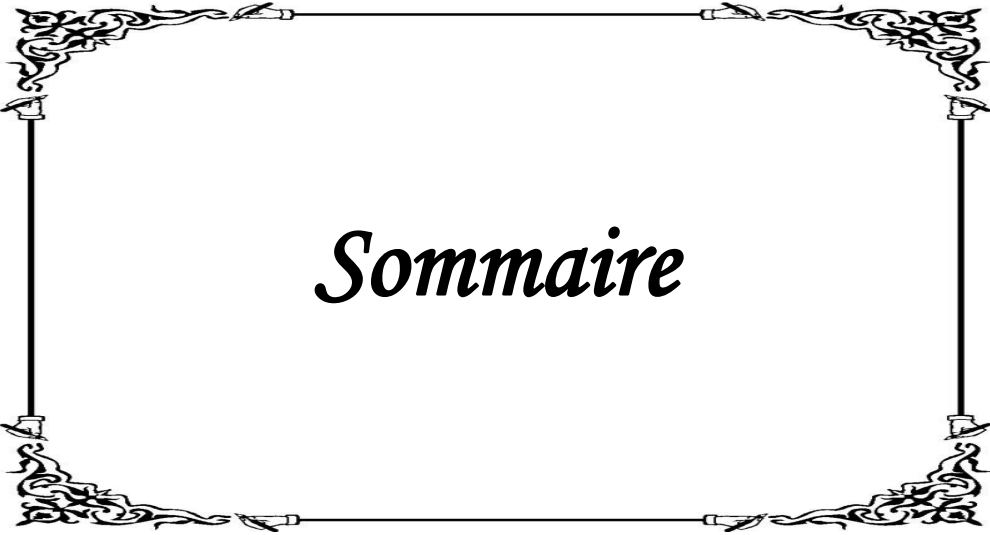
LISS : Solution de basse forte ionique

FY: Système Duffy

I,i,P : Motifs antigéniques

Anti pdl : Anti programed ligand

TCD : test de Coombs direct



Sommaire

I.	Introduction.....	1
II.	Matériels et méthodes.....	3
II.1.	La bonne question	5
II.1.1.	Définir les objectifs.....	5
II.1.2.	Définir les termes	5
II.2.	Les bons mots :.....	5
III.	Historique.....	7
IV.	Définition et classification	10
IV.1.	Définition :	11
IV.2.	Classification	11
IV.2.1.	Anémies hémolytiques auto-immunes à « anticorps chauds ».....	12
IV.2.2.	Anémies hémolytiques auto-immunes à « anticorps froids ».....	12
IV.2.3.	Anémies hémolytiques auto-immunes « mixtes » (7à 8%).....	13
IV.2.4.	Hémoglobinurie paroxystique à frigore.....	13
V.	Epidémiologie	15
VI.	Physiopathologie.....	17
VI.1.	Rupture de la tolérance et production d'auto anticorps :	18
VI.2.	Mécanismes de destruction des globules rouges sensibilisés :.....	19
VI.3.	Voies de destruction :.....	19
VI.3.1.	Destruction par le complexe d'attaque membranaire (CAM) :.....	19
VI.3.2.	Destruction par des cellules effectrices via les récepteurs :	19
VI.3.3.	Nombre important de facteurs.....	21
VI.3.4.	Intervention de l'immunité cellulaire :.....	22
VI.3.5.	Cas des anémies hémolytiques auto-immunes à IgA :.....	23
VII.	Diagnostic biologique des Anémies Hémolytiques Auto Immunes	24
VII.1.	les signes biologiques des anémies hémolytiques auto-immunes :	25
VII.1.1.	Sur le plan hématologique :	25
VII.1.1.1.	L'hémogramme avec frottis sanguin :.....	25

VII.1.1.2. Sur le plan biochimique :.....	26
VII.2. Le diagnostic immuno-hématologique :	27
VII.2.1. Le test direct à l'antiglobuline : le TDA.....	27
VII.2.1.1. Historique :	27
VII.2.1.2. Principe :.....	28
VII.2.1.3. Méthodes :	30
VII.2.1.3.1. Antiglobulines humaines :.....	30
VII.2.1.3.2. Prélèvement :.....	31
VII.2.1.3.3. Techniques :.....	31
a. TDA en tube :.....	31
b. Test direct à l'anti globuline en technique de filtration :.....	35
b.1. Principe :.....	35
b.2. Avantages :	36
b.3. Préparation des hématies :.....	36
b.4. Réactifs :.....	37
b.5. Centrifugation :	37
b.6. Lecture et interprétation des réactions :.....	37
b.7. Contrôle du système analytique :.....	38
c. Autres techniques :	39
c.1. Technique d'immunocapture en microplaque :.....	39
c.2. Technique en microplaque utilisant des hématies magnétisées :.....	39
VII.2.2. Test d'éluion :.....	40
VII.2.2.1. Définition :.....	40
a. Elution directe.....	40
a.1. Principes et limites techniques :.....	40
a.2. Lavages des hématies :.....	40
a.3. Transfert des hématies lavées dans un autre tube :.....	41
a.4. Elution proprement dite :.....	41
a.5. Analyse de l'éluat :.....	42
a.6. Interprétation de l'éluion :.....	42

VII.2.3.	Etude du sérum :	43
a.	Dans 80% des cas des AHAI à auto-anticorps chauds :	43
b.	dans les AHAI à auto-anticorps froids :	44
c.	Recherche de l'hémolysine biphasique :	47
VII.3.	Exploration immuno-hématologique à visée transfusionnelle :	50
VII.3.1.	Détermination du phénotype érythrocytaire du patient.	50
VII.3.2.	Détermination du phénotype étendu.	50
VII.3.3.	Recherche d'anticorps anti érythrocytaire	51
VII.3.4.	Techniques d'adsorption.....	52
VII.3.5.	Traitement du sérum par le DDT :	57
VII.4.	Le diagnostic étiologique des anémies hémolytiques auto-immunes.....	61
VII.4.1.	Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps chauds :.....	61
VII.4.1.1.	Cas particulier des AHAI à auto-anticorps chaud : Le syndrome d'Evans :	63
a.	Définition.....	63
b.	Physiopathologie :	63
c.	Diagnostic et caractéristiques :	64
VII.4.2.	Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps froids	65
VII.4.2.1.	Classification :	65
VII.4.2.2.	Interaction des agglutinines froides avec les globules rouges :	67
VII.4.2.3.	Les diverses affections associées aux AF :.....	70
VII.4.2.4.	Agglutinines froides transitoires :	71
VII.4.2.5.	Cas particulier des AHAI à autoanticorps froids : la maladie des agglutinines froide (MAF)	72
VII.4.3.	Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps incomplets :.....	72
VII.4.4.	Hémolysine biphasique de Donath-Landsteiner :	73
VIII.	Traitement des anémies hémolytiques auto-immunes.....	74
VIII.1.	Traitement des anémies hémolytiques auto-immunes chroniques idiopathiques à auto-anticorps « chauds »	76
VIII.1.1.	Transfusions :	78

VIII.1.2.La corticothérapie :	79
VIII.1.3.Danazol :	81
VIII.1.4.Splénectomie :	82
VIII.1.5.Immunosuppresseurs:	83
VIII.1.6.Immunomodulateurs :	86
VIII.1.7.les anticorps monoclonaux :	88
VIII.1.8.La thymectomie :	89
VIII.1.9.Héparine :	89
VIII.2. Traitement de la maladie des agglutinines « froides »	89
VIII.2.1.Traitement symptomatique :	89
VIII.2.2.Transfusion :	90
VIII.2.3.Echanges plasmatiques :	91
VIII.2.4.Traitement supprimeur :	91
VIII.3. Cas particuliers des IgM « chaudes » :	93
IX. Evolution et pronostic des anémies hémolytiques auto-immunes	94
X. Conclusion	99
XI. Résumés	101
XII. Bibliographie	105



I. Introduction

L'anémie hémolytique auto-immune (AHAI) est un événement rare (incidence annuelle est de 1 à 4 cas pour 100000 habitants) [1], pouvant s'observer à tout âge de la vie. La détermination du type d'AHAI est une étape capitale de la démarche diagnostique et doit tenir compte non seulement des propriétés immunochimique de l'auto-anticorps en cause produit par le lymphocyte B auto-réactif, mais aussi de l'existence ou non d'une maladie sous-jacente.

L'évolution est variable, cependant l'AHAI reste une pathologie grave, la mortalité pouvant atteindre 11% [2] en fonction des auteurs, et ce essentiellement du fait du peu de connaissances des mécanismes physiopathologiques et donc de traitements spécifiques adaptés.

Il peut être nécessaire, dans les formes aiguës, d'avoir recours à la transfusion, bien que le rendement soit en général faible.

La présence d'auto-anticorps représente une complexité pour la réalisation des examens immunohématologiques pré transfusionnels et la sécurisation immunologique de la transfusion.

L'objectif de notre étude est de faire une mise au point concernant le diagnostic biologique des AHAI.



II. Matériels et méthodes

Le travail bibliographique est un procédé qui passe par des étapes pouvant être résumées en 3 activités essentielles :

- Faire une bibliographie : processus intellectuel dont l'objectif est de trouver, de lire des documents sur un sujet donné.
- Consulter une bibliographie : utiliser la bibliographie réalisée (ouvrage ou partie de texte) pour trouver pistes et sources qui répondront aux questions que l'on se pose.
- Rédiger une bibliographie : le produit étant un texte qui respecte les normes internationales qui régissent la rédaction et dont l'objectif est de signaler des documents sur un sujet donné pour en permettre l'étude et améliorer la connaissance.

Cela nous mène à :

- Appréhender la méthode de la recherche documentaire par le suivi d'une démarche rigoureuse : les questions, les mots, la syntaxe.
- Avec les outils qu'offre le web : Moteurs de recherche, dictionnaires, encyclopédies, thésaurus, catalogues, répertoires, revues de sommaires, bases de données, archives ouvertes, producteurs de données.
- Pour concevoir un dossier documentaire.

Accès à l'information : ressources électroniques

- Archives ouvertes / Open Access
- Accès universitaires (campus)
- Accès nomade/ENT (codes)

Méthodologie

Une démarche rigoureuse dont les phases indispensables sont :

- Poser la bonne question et trouver les bons mots
- Utiliser la bonne syntaxe
- Connaitre les bons outils
- Sélectionner et gérer l'information et les documents
- Communiquer et diffuser les données recueillies.

II.1. La bonne question

II.1.1. Définir les objectifs

- ✦ Information ponctuelle, mise à jour
- ✦ Exposé, thèse, article scientifique, livre
- ✦ Types de documents, niveau d'information
- ✦ Accessibilité (sources et supports)
- ✦ Format.

II.1.2. Définir les termes

Définition exacte des termes utilisés (lecteur, dictionnaire spécialisé, terminologique de traduction)

II.2. Les bons mots :

Traduire les idées principales (Key concepts) de la question de recherche en concepts, en mots

- Mots-clés (Keywords, Searchterms), tags, marqueurs, étiquettes, etc.

Indexation par l'utilisateur (folksonomie)

- Descripteurs (Descriptors)

Indexation professionnelle (taxinomie), thesaurus, vocabulaire contrôlé (MeSH) Thesaurus : liste de termes normalisés (vocabulaire contrôlé) pour indexer des documents et pour les rechercher

medrano x Bibliothèque de la Faculté de... Ressources électroniques x Bases de données à accès re... EM Anémies hémolytiques auto-... x

www.em-premium.com/article/218301

EM Premium
 Votre réponse sur mesure

Abonné particulier ? accédez à www.em-consulte.com

Recherche dans Tous les produits recherche avancée

ACCUEIL Bouquets thématiques Traités EMC Revues Livres EM|select English products Univers infirmier DEVIS

Accueil > Traités > Hématologie > Anémies hémolytiques auto-immunes

Article précédent Présentation | Dernière mise à jour | Table des matières Article suivant

Article

- Plan de l'article
- 2 iconographies
- 1 autoévaluation
- Accès au texte (HTML)
- Accès au texte (PDF)
- Imprimer
- Partager

L'accès au texte intégral de cet article nécessite un abonnement.

Pour accéder à cet article vous avez la possibilité de :

- Recommander ce titre au responsable de votre institution pour qu'il abonne l'institution au traité Hématologie.
- Accéder à cet article en tant que particulier en accédant au site www.em-consulte.com dédié aux particuliers.

CLINICAL KEY

Obtenez des réponses complètes, pertinentes et fiables avec ce nouvel outil d'aide à la pratique clinique.



Découvrez **clinicalKey** >

Hématologie
 [13-006-D-20]
 Doi : 10.1016/S1155-1984(09)49952-7

Anémies hémolytiques auto-immunes

M. Michel : Professeur
 Service de médecine interne, Centre de référence pour les cytopénies auto-immunes de l'adulte, centre hospitalier universitaire Henri-Mondor, S2, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil cedex, France

> **Résumé**

L'anémie hémolytique auto-immune (AHAï) est un événement rare pouvant s'observer à tout âge de la vie. La détermination du type d'anémie hémolytique est une étape capitale de la démarche diagnostique et doit tenir compte non seulement des propriétés immunochimiques de l'autoanticorps en cause, mais aussi de l'existence ou non d'une maladie sous-jacente. Les modalités évolutives et le traitement des AHAï sont mal connus et non codifiés. Cette mise au point a pour objectif de mieux préciser les caractéristiques et les modalités de prise en charge des AHAï de l'adulte. Malgré l'absence d'étude contrôlée, certaines recommandations sur la stratégie thérapeutique sont proposées. La mise en place d'essais thérapeutiques multicentriques est nécessaire, afin notamment de mieux définir la place du rituximab et d'autres biothérapies en développement dans la prise en charge des AHAï.

Le texte complet de cet article est disponible en PDF.

Mots clés : Anémie hémolytique auto-immune, Autoanticorps « chauds », Maladie des agglutinines froides, Cytopénies auto-immunes, Rituximab

Plan Masquer le plan

démarrer Anémies hémolytiques... Liens 11:24



III. Historique

Les premières descriptions de la maladie sont françaises. De nombreux cas cliniques sont ensuite décrits un peu partout, insistant sur le caractère non héréditaire de l'anémie hémolytique, mais le mécanisme immunologique de l'hémolyse n'est pas soupçonné. En 1938, Dameshek et Schwartz énoncent le postulat surprenant de la responsabilité probable d'hémolysines anormales dans le déclenchement des anémies hémolytiques acquises aiguës. Leur revue de 1940 fait le point de la question en reprenant toute la littérature antérieure sur 95 pages et 380 références. Mais l'incapacité de démontrer la présence de ces hémolysines, faute de techniques adéquates, suscite la réserve sinon le scepticisme de leurs contemporains. La découverte du test à l'anti globuline et l'application de ce test aux malades atteints d'anémie hémolytique vont définitivement leur donner raison en démontrant le rôle des anticorps dans la physiopathologie de la maladie. La présence d'anticorps « incomplets » fixés sur les globules rouges devient alors le signe pathognomonique de l'AHAI. Cependant, la notion d'auto-immunité n'est pas facile à accepter par le monde transfusionnel confronté aux anticorps de l'allo-immunisation post-transfusionnelle de la maladie hémolytique de nouveau-né. Mais quand Weiner apporte la preuve de la présence d'un anticorps anti-e chez un patient de groupe CDe/CDe, la cause est entendue.

L'extension des connaissances se développe ensuite au fur et à mesure de l'évolution des techniques.

Du point de vue thérapeutique, l'avènement de la corticothérapie a complètement changé l'évolution de la maladie. L'effet bénéfique de la splénectomie était déjà connu depuis longtemps mais les complications septiques, parfois fulminantes, après la splénectomie la rendaient redoutable.

Les immunosuppresseurs sont venus par la suite compléter la panoplie des autres traitements. La mise en place d'essai thérapeutique multi centrique est nécessaire, afin notamment de mieux définir la place de Rituximab et d'autres biothérapies en développement dans la prise en charge des AHAI. [3]



*IV. Définition
et classification*

IV.1. Définition :

Les anémies hémolytiques auto immunes (AHAI) sont définies par la destruction exagérée des hématies par des auto-anticorps dirigés contre des antigènes de la membrane érythrocytaire. Cette fixation immune va déclencher une série de réactions aboutissant soit à la lyse directe des globules rouges au niveau de la circulation sanguine (hémolyse intra vasculaire), soit à leur phagocyte par le système macrophagique (hémolyse extra vasculaire ou tissulaire)

Les fractions du complément sont souvent mises en jeu dans le processus de l'hémolyse immune.

Le terme d'AHAI devrait, stricto sensu, ne s'appliquer qu'aux cas d'une anémie avec des signes hémolyse et la présence démontrée d'anticorps anti-érythrocytaires. Cette définition est trop stricte car l'hémolyse peut être compensée sans anémie apparente, l'auto anticorps peut ne pas être mis en évidence, sans pour autant justifier l'élimination du diagnostic mais l'existence isolée d'un test Coombs positif ou d'un auto anticorps peut se voir chez des sujets normaux. [4]

IV.2. Classification

Les AHAI peuvent être classées selon différents critères : l'évolution aiguë ou chronique ; l'étiologie, idiopathique ou secondaire ; les caractéristiques des auto-anticorps. La connaissance des caractéristiques des auto-anticorps responsables a une valeur pronostique et permet d'orienter le traitement. Le laboratoire d'immuno-hématologie est donc un support indispensable à la décision et au suivi thérapeutique. Sont ainsi différenciées les AHAI à

« anticorps chauds », les AHAI à « anticorps froids », les AHAI mixtes et l'hémoglobinurie paroxystique à frigore.

IV.2.1. Anémies hémolytiques auto-immunes à « anticorps chauds »

Elles sont le plus fréquemment associées à des IgG avec une réactivité optimale à + 37°C vis-à-vis des GR. La cible antigénique est classiquement représentée par des peptides non polymorphes du complexe RH, de la bande 4-1* et de la bande 3 de l'érythrocyte. Il s'agit de la forme la plus commune

D'AHAI (environ 70% des cas), principalement rencontrée en cours de syndrome lymphoprolifératif et de maladies systémiques (lupus érythémateux systémique—LED). Une large proportion de ce type d'AHAI est toutefois considérée comme idiopathique.

IV.2.2. Anémies hémolytiques auto-immunes à « anticorps froids »

Sont par définition, des anticorps susceptibles d'agglutiner les globules rouges à froid. On sait depuis peu que les anticorps froids (AF) ont aussi d'autres potentialités. Elles sont capables de lyser d'autres cellules, d'altérer les fonctions phagocytaires, de perturber la formation de rosettes de lymphocytes. Ces activités cytotoxiques et lytiques sont thermo-dépendantes et nécessitent la présence de complément. Plus que de simples agglutinines, les AF peuvent être plus généralement désignées comme des « anticorps actifs à froid ».

Les antigènes reconnus par les AF sont présents sur de nombreuses cellules normales que sur des cellules malignes. On les retrouve aussi à l'état soluble dans divers milieux biologiques.

L'identification de ces antigènes peut être utile en tant que marqueurs de différenciation et de maturation ou de marqueurs oncofoetaux.

Elles peuvent se manifester sous forme chronique, rencontrées chez l'adulte âgé et parfois associées à des hémopathies de type B (lymphome, macroglobulinémie de Waldenström ou LLC). On parle alors de maladie des agglutinines froides. L'auto-anticorps froid est habituellement une IgM de nature monoclonale se fixant à + 4°C sur les hématies. Il existe aussi des formes transitoires survenant au décours de maladies infectieuses, l'auto-anticorps IgM apparaît alors de nature polyclonale. La cible antigénique reconnue est de structure polysaccharidique. Il s'agit principalement des antigènes I1 (I), 207002 (i) et Pr.

IV.2.3. Anémies hémolytiques auto-immunes « mixtes » (7 à 8%)

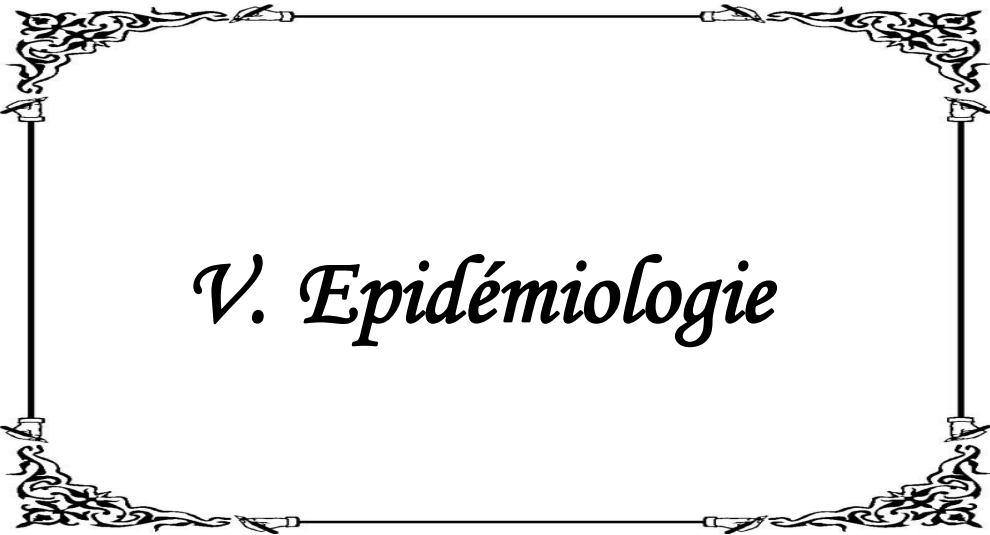
Les auto-anticorps des AHAI mixtes possèdent des caractéristiques associant à la fois celles d'une auto anticorps chaud et d'un auto-anticorps froid, ont le plus souvent une amplitude thermique large, et sont parfois actifs à +37°C. Ces AHAI sont souvent observées chez des patients atteints de LED.

IV.2.4. Hémoglobinurie paroxystique à frigore

Elle représente la forme la plus rare d'AHAI (< 2% des cas d'AHAI de l'adulte). Elle est plus fréquente chez l'enfant, faisant généralement suite à un syndrome infectieux.

L'auto-anticorps est de classe IgG de spécificité anti-P est qualifié d'hémolysine biphasique. Il se fixe sur les hématies à froid, active les deux premiers composants du complément ; la cascade enzymatique du complément se poursuivant alors à + 37°C jusqu'à l'hémolyse. [5]

La distinction du type d'AHAI, à anticorps chauds ou froids est un élément essentiel de la démarche diagnostique qui conditionne la prise en charge thérapeutique.



V. Epidémiologie

L'incidence annuelle est à peu près la même dans différents pays.

Il s'agit d'une affection relativement rare puisque les études épidémiologiques ont trouvé une incidence d'environ 1 cas/100000 habitants par an dans le monde occidental. 1 cas/75 000 habitants au Danemark, 1 cas /80 000 aux Etats- unis, En Angleterre l'incidence est inférieure à 2 pour 100 000 habitants avant l'âge de 40 ans pour s'élever à 2 pour 100 000 habitants vers l'âge de 70 ans.

En réalité, ces chiffres sous-estiment la fréquence de l'AHAI car souvent ils ne prennent pas en compte les formes associées à une autre pathologie qui est parfois au premier plan.

Les enfants comme les adultes peuvent être atteints depuis les premières années de leur vie jusqu'à plus de 80 ans.

Les formes idiopathiques restent l'apanage des sujets jeunes entre 15 ans et 30 ans alors que les formes secondaires se voient plus volontiers chez les sujets âgés.

Les AHAI associées à d'autres maladies auto immunes présentent une prédominance féminine avec un sexe ratio : femmes/hommes d'environ 60/100.
[6]

Le challenge lors de la mise en évidence d'une anémie hémolytique auto-immune consiste à rechercher la pathologie sous-jacente, dont la découverte conditionnera le pronostic et le traitement.



VI. Physiopathologie

VI.1. Rupture de la tolérance et production d'auto anticorps :

Comme dans les pathologies auto-immunes systémiques, les mécanismes de rupture de tolérance ne sont pas clairement identifiés. Des modèles murins d'AHAI, mais aussi quelques études humaines, mettent en avant des déséquilibres immunitaires : balance Th1/Th2 modifiée avec production accrue d'IL-10, défaut des lymphocytes T régulateurs, défaut d'apoptose* des lymphocytes auto réactifs, activation polyclonale des lymphocytes T et B pouvant être favorisée par une infection virale ou à une exposition à des antigènes étrangers (allo-immunisation anti-érythrocytaire) et plus récemment, rôle de complexes immuns IgM-IgG. Un mimétisme moléculaire des antigènes de groupes sanguins (I,i ...) avec certains agents infectieux (*Mycoplasma pneumonia**, virus d'Epstein-Barr*...) et l'apparition de cryptogènes sont aussi évoqués. Dans les formes secondaires d'AHAI non liées à des agents infectieux, des facteurs génétiques (formes associées au lupus, par exemple) et/ou des anomalies intrinsèques des lymphocytes B (formes associées à la leucémie lymphoïde chronique-LLC- ou au déficit immunitaire de type commun* variable) contribuent possiblement à la production d'auto-anticorps. Dans d'autres circonstances enfin, la présence d'auto-anticorps peut être secondaire à l'apparition d'un clone tumoral B (IgM monoclonale) à activité agglutinante dans la maladie des agglutinines froides.

Dans tous les cas, la résultante de ces dérégulations est la production d'auto-anticorps plus ou moins capables d'induire une destruction des GR sensibilisés.

VI.2. Mécanismes de destruction des globules rouges sensibilisés :

La présence d'un auto-anticorps dans le sérum d'un patient n'est pas toujours synonyme de destruction des GR sensibilisés. La lyse des GR par des auto-anticorps dépend des caractéristiques de l'auto-anticorps, de sa cible, mais aussi de l'état d'activation des macrophages et d'autres cellules effectrices, du complément, de ses activateurs et inhibiteurs, et de l'état préalable de la membrane de GR.

VI.3. Voies de destruction :

Classiquement on décrit deux voies de destruction des GR sensibilisés (figure1) étroitement liées à la capacité des anticorps à fixer et à activer le complément.

VI.3.1. Destruction par le complexe d'attaque membranaire (CAM) :

(CAM) aboutissant à une hémolyse intravasculaire : les anticorps de type IgG1 et IgG3, les IgM fixent le complément. La cascade d'activation du complément peut alors aboutir à la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM). On l'observe surtout pour les IgM, et elle est favorisée pour les autres anticorps lorsque la cible antigénique est dense à la surface membranaire, permettant une proximité des anticorps.

VI.3.2. Destruction par des cellules effectrices via les récepteurs :

Fc des IgG (FcR) aboutissent à une hémolyse intra-tissulaire, dans la rate essentiellement : schématiquement, les trois types de récepteurs Fc actifs à la surface de macrophages (FcR1, 2 et 3) fixent le fragment Fc des IgG avec une affinité variable selon l'isotype et la conformation monomérique ou

polymérique des anticorps. L'affinité est maximale pour les IgG3, forte pour les IgG1 et faible pour les IgG2 et IgG4. Lorsque l'anticorps a la capacité d'activer le complément (IgG3 > IgG1 > IgG2) jusqu'au fragment C3d, l'interaction avec les récepteurs spécifiques à la surface des macrophages, en favorisant l'adhérence immune, potentialise la destruction via le récepteur Fc.

Ces données expliquent en partie une moindre destruction des GR sensibilisés par les IgG2 et IgG4 ne fixant pas le complément et réputés moins dangereux.

La phagocytose peut être partielle, n'emportant qu'un fragment de la membrane des hématies sensibilisées, expliquant l'apparition d'un certain nombre de sphérocytes, cellules devenues très sensibles à la lyse osmotique extravasculaire dans les sinusoides spléniques. In vivo, le fragment C3b est généralement dégradé par le C3b inactivateur en iC3b puis C3dg, restant seul fixé à la surface des hématies. Il semble jouer un rôle protecteur sur l'adhérence immune permettant la recirculation provisoire de ces hématies.

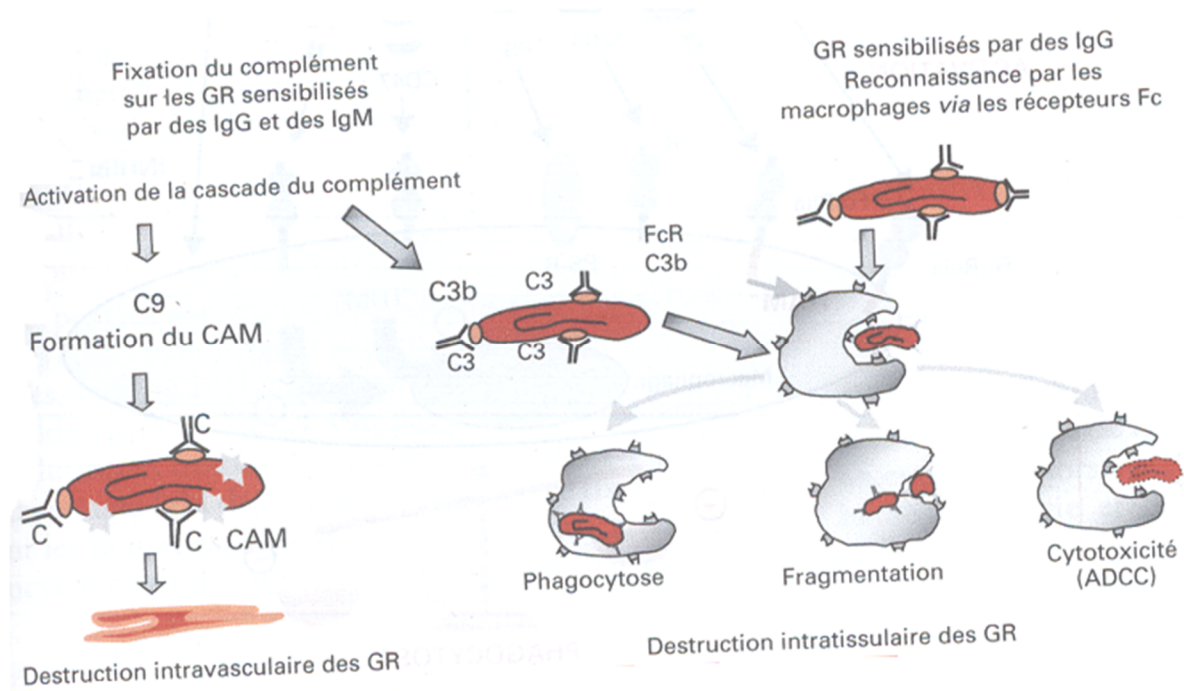


Figure1 : destruction intra tissulaire des GR

VI.3.3. Nombre important de facteurs

Ce schéma relativement simple est en fait modulé par un nombre important de facteurs, permettant d'expliquer les discordances observées entre les caractéristiques d'un auto anticorps, telles que retrouvées au laboratoire d'immuno-hématologie (classe et sous-classe, intensité du TDA) et la présentation clinique de l'AHAI :

- *le statut inflammatoire du patient qui, via la production de cytokines pro-inflammatoires, module l'activité des cellules effectrices, l'expression des récepteurs Fc à leur surface ;

- *des facteurs génétiques : certains polymorphismes des récepteurs Fc activateurs modulent leur affinité pour les anticorps ou interfèrent sur l'activité

inhibitrice des récepteurs inhibiteurs. Des polymorphismes du C1q ont été associés à certaines maladies auto-immunes systémiques ;

*la membrane du GR : un certain nombre de molécules exprimées à la surface du GR jouent un rôle pivot protégeant de la destruction tels le CD47, les acides sialiques (« don't eat me signal » pour les macrophages), le CD55 et le CD59 (inhibiteurs du complément) ou en facilitant leur destruction, telle la phosphatidyl-sérine marqueur d'apoptose. Ce phospholipide membranaire, qui subit un flip flop du feuillet interne vers le feuillet externe chez toute cellule en apoptose, est reconnu par les macrophages au niveau du récepteur spécifique qui induit la phagocytose. De plus, il faciliterait la fixation non spécifique des fractions activées du complément, mais aussi des anticorps ;

*au niveau de la membrane du GR, la cible de l'auto-anticorps pourrait aussi être un facteur de gravité, sachant que le nombre de copies des antigènes est très variable en fonction de la spécificité. A ce titre, on peut opposer la bande 3 présente à plus d'un million de copies par GR et la molécule RH exprimée à seulement 25000 copies par GR. Peu d'études permettent de déterminer si le facteur spécificité précise de l'auto-anticorps est rarement recherchée ;

*l'état de glycosylation des anticorps : il a été montré, dans un certain nombre de pathologies auto-immunes, une modulation de la phagocytose en fonction de l'état de glycosylation du fragment Fc.

VI.3.4. Intervention de l'immunité cellulaire :

La destruction par les macrophages des GR sensibilisés par des auto-anticorps est donc la résultante de signaux activateurs et inhibiteurs (Figure 2). Mais d'autres mécanismes de destruction ont été proposés, notamment la lyse des GR par un phénomène de cytotoxicité dépendante des anticorps via les macrophages, mais aussi les cellules NK (Natural Killer). Plus récemment, une

cytotoxicité directe de l'anticorps sur le GR a été proposée avec induction d'apoptose et diminution importante de la durée de vie du GR sensibilisé.

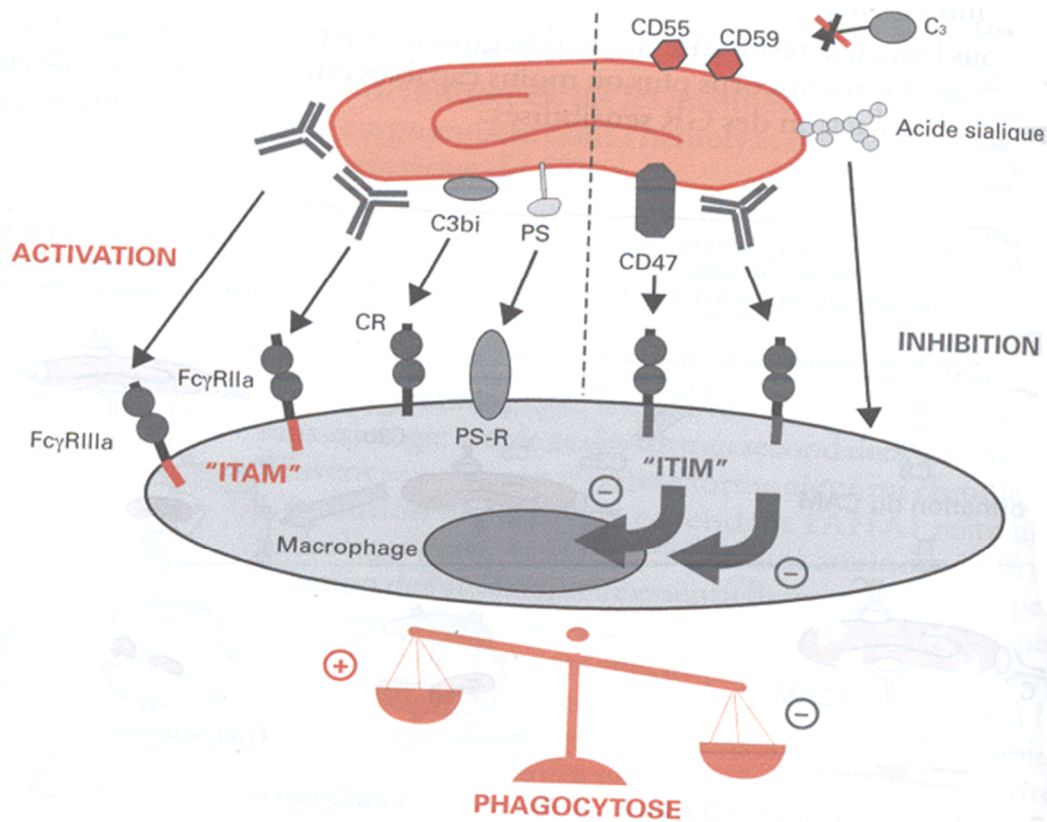
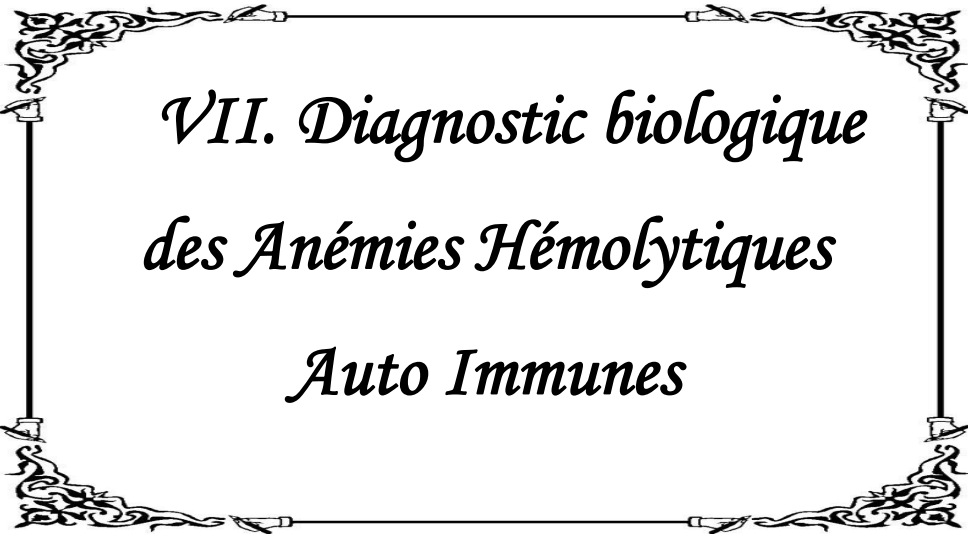


Figure 2 : signaux activateurs et inhibiteurs de la phagocytose :

VI.3.5. Cas des anémies hémolytiques auto-immunes à IgA :

Enfin, en association ou non avec les IgG et les IgM, on peut retrouver des auto-anticorps de classe IgA qui, lorsqu'ils sont isolés, semblent produire des maladies plus sévères. Le mécanisme de destruction via les IgA a été peu exploré. Une destruction par les macrophages via les récepteurs Fc est possible, mais d'autres mécanismes ont été mis en évidence, telle une séquestration dans la rate des GR sensibilisés. [7]



*VII. Diagnostic biologique
des Anémies Hémolytiques
Auto Immunes*

L'exploration biologique d'une AHAI répond à un triple objectif : établir le diagnostic et le classement de la nature du conflit auto-immun, déceler les facteurs prédictifs de sévérité et mettre en place la sécurité immunologique du support transfusionnel.

VII.1. les signes biologiques des anémies hémolytiques auto-immunes : [8]

VII.1.1. Sur le plan hématologique :

VII.1.1.1. L'hémogramme avec frottis sanguin :

- ❖ Il s'agit le plus souvent d'une anémie normocytaire d'installation progressive
- ➔ Taux d'hémoglobine < 13g/dl chez l'homme et < 12g/dl chez la femme
- ➔ Le volume globulaire moyen (VGM) entre 80-100fL
- ➔ La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) entre 32-36 g/dl

L'anémie est régénérative : taux de réticulocytes >150Giga/L

- ❖ Parfois l'anémie est macrocytaire : VGM>100fL
- ❖ le frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa :

Il révèle la présence de quelques sphérocytes avec anisocytose, une myélémie incluant quelques érythroblastes

- ❖ l'anémie peut cependant être rapide brutale et sévère abaissant le taux d'hémoglobine à moins de 3 à 4 g/dl

VII.1.1.2. Sur le plan biochimique :

Les stigmates de l'hyper hémolyse se traduisent par :

- Une diminution de l'haptoglobine ;
- Une élévation de la Lactate déshydrogénase (LDH) > 430 UI/L en rapport avec l'importance de l'hémolyse
- Une hémoglobinémie avec hémoglobinurie en cas d'hémolyse intravasculaire
- Parfois une augmentation de la bilirubine non conjuguée (BNC) > 17 μmol/L et de l'urobilirubine > 3,5 g/24h dans les urines ;
- Une baisse de l'hémoglobine glyquée < 3,5%.

(La diminution de la durée de vie des globules rouges peut être appréciée par le dosage de l'hémoglobine glyquée, dont l'abaissement est proportionnel à la diminution de leur durée de vie)

Il faut cependant savoir que ces signes biologiques peuvent être absents ou abolis par les pathologies sous-jacentes associées à l'anémie hémolytique auto-immune.

En présence d'une anémie de type hémolytique, l'implication d'un mécanisme immunologique repose sur la positivité du test direct à l'antiglobuline (TDA), encore communément appelé test de Coombs direct, pierre angulaire du diagnostic d'AHAI qui permet de démontrer le revêtement érythrocytaire par des auto-anticorps

VII.2. Le diagnostic immuno-hématologique :

VII.2.1. Le test direct à l'antiglobuline : le TDA

Représente l'examen clé du diagnostic en révélant le revêtement érythrocytaire par les immunoglobulines. Les modalités techniques sont très importantes pour la fiabilité des résultats.

VII.2.1.1. Historique :

Ce test a été utilisé pour la première fois en 1945 par Coombs et al. Pour détecter des anticorps dits « incomplets » (non agglutinants) du système RH dans le contexte d'une maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN). Cette équipe a pu démontrer que la sensibilisation des hématies par ces anticorps dits incomplets n'aboutissait pas systématiquement à une agglutination, d'où leur qualificatif « d'incomplet ». Les hématies sensibilisées ont pu alors être agglutinées grâce à l'utilisation d'une anti globuline humaine (AGH) préparée à partir du sérum d'animaux immunisés par des globulines humaines. Il est apparu rapidement que cette application pouvait être utilisée pour détecter d'autres anticorps fixés sur des hématies. Ainsi, la finalisation de sa procédure et son utilisation en routine ont largement contribué à découvrir de nombreux antigènes de groupe sanguins et à aider au diagnostic clinico-biologique de nombreuses situations hémolytiques en contexte d'incompatibilité fœto-maternelle, de réaction transfusionnelle ou d'auto-immunité.

VII.2.1.2. Principe :

Le TDA repose sur la mise en évidence in vitro d'une agglutination des GR autologues recouverts d'auto ou d'allo-anticorps (Ig) et/ou de complément (GR « sensibilisés »).

La seule présence d'Ig et/ou de compléments fixés à la membrane des GR est insuffisante pour provoquer leur agglutination spontanée in vitro. C'est pourquoi le test de Coombs comprenait dans sa description initiale trois étapes dont découle le TDA :

- ❖ étape de lavage préalable des GR afin de les séparer des protéines plasmatiques ;
- ❖ remise en suspension des GR sensibilisés dans une solution saline dépourvue d'anticorps ;
- ❖ adjonction d'un sérum contenant des anti globulines humaines polyspécifiques (anti-IgG, anti-C3) d'origine animale (sérum de lapin préalablement immunisé par un Ig humaine) entraînant la formation de « ponts » et l'agglutination des GR sensibilisées.

En effet. La mise en évidence de la sensibilisation passe alors par l'utilisation d'artifices qui permettent, soit de la combler en créant un pont immunologique par un anticorps reconnaissant les fragments Fc des immunoglobulines qui sensibilisent l'hématie. C'est ce mécanisme qui a été développé par Coombs, Mourant et Race en utilisant un anticorps anti-isotype des immunoglobulines humaines appelé anti globuline humaine.

Par extension, l'utilisation de ce type de réactif a permis aussi de mettre en évidence le stigmata d'une sensibilisation transitoire qui est représentée par le

complément. En effet, certains anticorps, comme ceux de nature IgM, se fixent sur l'hématie, activent le complément, puis s'éluent. Si l'anticorps ne peut plus être détecté, le complément fixé le reste et notamment la fraction C3d qui peut être mise en évidence par une anti globuline spécifique.

Dans le cadre de l'activation complémentaire, cette fraction est la plus importante à détecter. En effet, lorsque le complément est activé, la fraction C3 se scinde en C3a, qui est libérée dans le plasma, et C3b qui reste fixée sur l'hématie. C'est par l'intermédiaire de cette fraction, reconnue par les récepteurs spécifiques des macrophages hépatiques, que ce fait l'épuration des hématies qui ont été sensibilisées initialement par l'anticorps. Les hématies qui ont échappé aux macrophages voient la fraction C3b qu'elles portent se scinder en C3c qui est libérée dans le milieu et C3d qui restent sur la membrane et qui n'est reconnue par aucun récepteur des macrophages. On conçoit l'intérêt de détecter cette fraction qui a le plus de chance d'être présente sur les hématies persistant dans la circulation d'un patient en contexte hémolytique. [9]

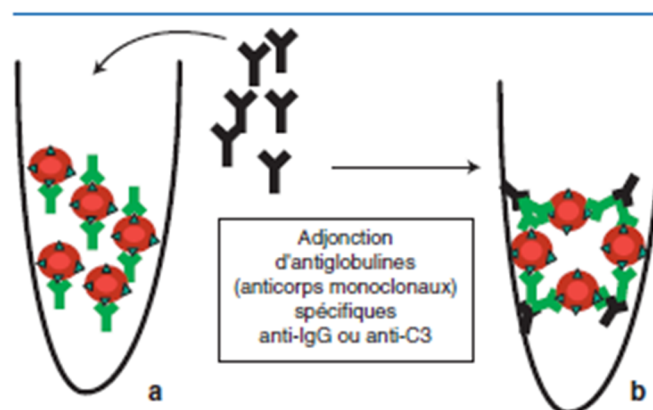


Figure 1. Principe du test direct à l'antiglobuline. a. Hématies du malade sensibilisées et préalablement lavées : pas d'agglutination visible in vitro ; b. agglutination visible : test positif. Présence d'un anticorps (immunoglobulines G [IgG]) et/ou de complément (C3) fixé à la membrane des hématies.

Figure 3 : le test de Coombs

VII.2.1.3. Méthodes :

VII.2.1.3.1. Antiglobulines humaines :

Les AGH (antiglobulines humaines) reconnaissent des marqueurs isotypiques des immunoglobulines ou de certains composants du complément humain. Certaines sont d'origine polyclonale obtenues par l'immunisation de lapins ou de chèvres avec des sérums humains. D'autres sont monoclonales et d'origine murine. Deux types d'antiglobulines sont disponibles : les anti globulines polyspécifiques et monospécifiques.

Les antiglobulines polyspécifiques doivent contenir de l'anti-IgG et de l'anti-C3d (ou anti-C3d/C3b).

Les AGH polyclonale peuvent contenir de façon occasionnelle des anticorps anti-C3b,-C4b,-C4d,-IgM,-IgA,-Kappa et -Lambda, comme nous l'avons dit précédemment, les composantes anti-igG et anti-C3d demeurent néanmoins les plus importantes. Ainsi dans une étude menée sur 347 patients atteints d'anémie hémolytique auto-immune (AHAI), aucun d'entre eux n'avait des hématies exclusivement sensibilisées par des IgM et seuls 2 d'entre eux ne présentaient que des IgA. Par ailleurs la présence d'anti-C4d dans les réactifs d'origine polyclonale peut être source de faux positifs dans la mesure où cette fraction peut se fixer sur des hématies prélevées dans un tube sec et conservé à +4°C. L'utilisation de réactifs anti-C3d monoclonaux élimine cette réactivité. Compte tenu que certains épitopes de C3b peuvent être reconnus par les anti-C3d d'origine polyclonale, il convient que le fabricant précise, dans ces conditions, que la spécificité est anti-C3b/C3d monoclonaux. L'utilisation des AGH monoclonales impose une attention particulière concernant le respect des instructions du fabricant en raison du risque de faux négatif avec certains anti-

C3d qui peuvent nécessiter une incubation préalable avant centrifugation ou un respect strict du ratio cellules/sérum compte tenu d'une sensibilité plus importante des réactifs monoclonaux aux effets de prozone.

VII.2.1.3.2. Prélèvement :

Le prélèvement doit être effectué dans un tube avec anticoagulant de type EDTA qui, par le biais de la chélation du calcium, évite la fixation de C4 source de faux positifs avec certains réactifs. L'analyse doit être réalisée dans un délai maximal de 48 heures après le prélèvement. Des faux positifs ont été décrits en cas de présence de dextrose, de petits volumes (< 0,5mL) ou en cas d'utilisation de grosses aiguilles pour le prélèvement ou de tubes avec un gel séparateur en silicone.

VII.2.1.3.3. Techniques :

a. TDA en tube :

Même avec l'introduction en routine, depuis de nombreuses années, des microtechniques (filtration et immun adhérence), la technique en tube doit toujours être considérée comme la technique de référence en immunohématologie de façon générale et notamment pour le TDA dans lequel les implications cliniques, au sens de la démarche étiologique ou des indications thérapeutiques, sont majeures. Les principales étapes sont décrites ci-dessous.

a.1. Préparation des hématies :

→ Les lavages :

Les hématies doivent être lavées au préalable afin d'éliminer toutes les globulines humaines fixées de façon non spécifique sur le globule rouge (GR) et qui pourraient être source de faux négatifs par inhibition de l'anti-globuline ou

de faux positifs par adsorption érythrocytaire aspécifique. Il convient de rappeler aussi que, afin d'éviter toute inhibition de l'action d'une anti-globuline, Il est nécessaire d'utiliser une verrerie totalement dépourvue de protéines humaines.

→ La mise en suspension :

Habituellement, en tube, une suspension érythrocytaire de l'ordre de 3% à 5% est utilisée. Des suspensions érythrocytaires trop concentrées ou trop diluées donneraient des ratios incorrects en termes de nombre de cellules/nombre d'anticorps pouvant aboutir à des faux négatifs.

a.2. Réactifs :

Les antiglobulines : la réglementation impose d'utiliser d'emblée et de façon simultanée deux antiglobulines monospécifiques anti-IgG et anti-C3d.

Le réactif témoin : le Guide de bonne exécution des analyses (GBEA) impose l'utilisation systématique d'un réactif témoin qui est caractérisé par le diluant du réactif dépourvu de l'anticorps. L'objectif de ce réactif témoin de valider toute réaction positive en l'attribuant à l'action spécifique de l'antiglobuline et non pas à une sensibilisation préalable des hématies par un anticorps spontanément agglutinant comme, par exemple, un anticorps actif à +4°C de classe IgM et qui aboutirait à une interprétation erronée de TDA positif mixte alors qu'il est en fait de type uniquement complément.

a.3. Répartition :

Le volume de répartition : les volumes de suspension érythrocytaire et de réactif doivent respecter les instructions de la séquence de répartition : en vue d'éviter un oubli de répartition des antiglobulines, il est conseillé de répartir les réactifs en premier afin de vérifier leur présence avant la répartition des

suspensions globulaires. De plus, pour faciliter cette vérification, certains fournisseurs ont coloré les réactifs.

a.4. Etape d'incubation :

Une incubation préalable est parfois requise et demandée par le fabricant pour sensibiliser les réactions avec certains antiglobulines anti-C3d. Il faut respecter strictement ces instructions.

a.5. Centrifugation :

Il s'agit d'une opération particulièrement sensible.

→ Si la centrifugation est insuffisante, elle aboutit à un rapprochement non optimal des hématies pouvant être source de faux négatifs.

→ Si la centrifugation est excessive, elle peut rendre difficile une remise en suspension dont l'intensité peut casser des agglutinats et les rendre invisibles.

a.6. Remise en suspension des hématies :

Elle doit être douce et réalisée sous les yeux de l'opérateur au-dessus d'un fond blanc. Cette opération manuelle est source de nombreux faux négatifs qui ont probablement été excessivement interprétés comme un déficit de sensibilité de cette technique par rapport à d'autres comme la filtration ou l'immunoadhérence.

a.7. Lecture et interprétation des réactions :

✓ *Une réaction positive est caractérisée par :*

- la présence d'agglutinats plus ou moins nombreux et de taille variable, allant du gros agglutinat unique et qualifié de 4+S(Strong) à une image de « sable » au fond du tube, qualifiée (+) et pouvant facilement disparaître en cas de remise en suspension excessive.

✓ *Une réaction négative correspond à :*

- la remise en suspension totale des hématies dont la cinétique est classiquement décrite en « nuage de fumée ou fumerole », permettant de la différencier d'une remise en suspension par morcellement avec de petits agglutinats transitoires qui doit être considérée comme une réaction positive. En cas de doute sur la positivité d'une réaction, une lecture au microscope permet de différencier d'authentiques agglutinats à contours irréguliers en « carte de géographie » d'un phénomène de rouleaux caractérisé par un empilement des hématies en « piles d'assiettes » qui se retrouverait d'ailleurs aussi avec le réactif témoin.

A l'inverse, le TDA peut être faussement négatif dans d'authentiques AHAI (~ 5% des AHAI) :

- ❖ Lorsque les auto-anticorps sont présents en quantité trop faible (< 150-200 par GR) ; (le seuil de sensibilité moléculaire d'AC/GR est compris entre 300-500)
- ❖ Lorsque l'affinité de l'auto-anticorps est faible et que celui-ci est éliminé lors d'un lavage des GR ;
- ❖ En raison d'un problème et/ou d'une erreur technique : lavage insuffisant des GR, test réalisé sur échantillon de sang non fraîchement prélevé (qui peut induire surtout une fixation isolée de C3) ;
- ❖ Lorsqu'il s'agit d'un anticorps de type IgA, ce qui est le cas dans environ 2% à 3% des AHAI.

Afin de ne pas méconnaître cette dernière situation, un TDA avec antiglobuline anti-IgA doit être systématiquement demandé lorsque le test est négatif en IgG et C3d. Le diagnostic d'AHAI à TDA négatif stricto sensu ne peut donc être retenu qu'après avoir exclu les autres causes d'anémies

hémolytiques constitutionnelles ou acquises pouvant se révéler à l'âge adulte et doit être remis en question en l'absence de réponse à une corticothérapie « d'épreuve ». [10]

Une image en double population (DP) est caractérisée par la présence d'agglutinats coexistant avec une remise en suspension totale des hématies. En cas de doute, la vérification microscopique permet de révéler la présence d'agglutinats baignant dans une mer d'hématies libres.

a.8. Contrôle du système analytique :

✓ *Le contrôle interne de qualité* (CIQ) : la réglementation impose la mise en œuvre du CIQ au moins une fois par jour. En ce qui concerne le TDA, il repose sur l'analyse, dans les mêmes conditions techniques, de 2 échantillons d'hématies sensibilisées respectivement par un anticorps IgG et par des fractions C3d du complément.

✓ *Le contrôle de l'étape de lavage des hématies* : chaque réaction négative devrait être contrôlée avec des hématies de contrôle sensibilisées qui, en donnant une réaction positive, permettent d'éliminer le faux négatif dû à un oubli de répartition des antiglobulines ou à l'inhibition de celles-ci par un mauvais lavage des hématies. [11]

b. Test direct à l'anti globuline en technique de filtration :

b.1. Principe :

Les supports sont caractérisés par une colonne de billes de verre ou de gel dans laquelle sont coulées directement les anti-globulines. La suspension d'hématies est positionnée dans la chambre supérieure de la colonne et c'est la centrifugation qui amène, par gravité, les hématies au contact des réactifs. En cas de sensibilisation, la rencontre avec l'anti globuline aboutit à une

agglutination qui sera secondairement piégée dans la colonne. En absence de sensibilisation, aucune agglutination ne surviendra et les hématies traverseront la colonne sans s'y arrêter.

b.2. Avantages :

- grâce à ce TDA par technique de filtration, il n'est plus nécessaire de laver les hématies
- possibilité d'automatisation ainsi qu'une standardisation de la lecture qui ne présentent pas l'inconvénient, opérateur dépendants, de la remise en suspension.
- La répartition préalable des antiglobulines dans le support réactionnel offre une sécurité supplémentaire pour éviter les erreurs par oubli ou mauvais volume de répartition.
- Aucune incubation n'est requise pour le TDA avec ce type de support dans la mesure où les hématies ne sont en contact avec le réactif qu'au cours du processus de centrifugation.
- L'absence de remise en suspension participe à la standardisation de cette technologie qui, par une bonne conservation des supports, peut même permettre une lecture différée ou une double lecture par un automate et l'œil humain.

b.3. Préparation des hématies :

→ La mise en suspension : classiquement, en filtration, une suspension érythrocytaire de l'ordre de 0,8% est utilisée comme pour d'autres techniques, des suspensions inadéquates peuvent être sources de faux négatifs.

b.4. Réactifs :

Les antiglobulines : les deux antiglobulines monospécifiques anti-IgG et anti C3d imposées par la réglementation sont pré distribuées dans les colonnes ainsi qu'un réactif témoin. Il existe notamment pour le TDA chez le nouveau-né, des supports avec uniquement de l'anti-IgG.

b.5. Centrifugation :

Même si les centrifugeuses sont préprogrammées afin de fournir un nombre de globulines et une durée de centrifugation adéquats, il est nécessaire de vérifier régulièrement ces paramètres qui peuvent être sources de résultats erronés.

b.6. Lecture et interprétation des réactions :

✓ **Une réaction positive est caractérisée par :**

La présence d'agglutinats piégés dans la colonne. L'intensité des réactions repose sur le niveau de blocage des hématies dans la colonne qui peut aller d'un arrêt total qualifié de 4+ à des hématies dispersées sur toute la hauteur de la colonne pour les réactions faibles.

Bien que ce test soit hautement sensible (sensibilité (95%) pour le diagnostic d'AHAI, il n'a pas une très bonne spécificité puisque sa valeur prédictive positive (en faveur du mécanisme immunologique de l'anémie) est de 83% chez un patient ayant une anémie hémolytique. En outre un TDA positif isolément n'est pas de valeur pathologique propre en l'absence d'hémolyse associée. Un test « faussement positif » peut notamment s'observer en cas d'adsorption non spécifique d'Ig dans diverses circonstances (hypergammaglobulinémie polyclonale, autre maladie auto-immune, suite de l'administration d'Ig polyvalentes, myélome...) ou encore en cas d'anémie

hémolytique de mécanisme immunologique induite par un médicament. Cette éventualité reste rare dans la population générale : selon les études, entre 1/3500 et population générale ou chez les donneurs de sang ont un TDA positif. La prévalence d'un TDA positif peut en revanche s'élever entre 1% et 15% dans des populations de patients hospitalisés n'ayant pas d'anémie hémolytique [12]

✓ **Une réaction négative est caractérisée par :**

Le rassemblement de toutes les hématies au bas de la colonne car celles-ci, non agglutinées, l'ont traversée sans s'y arrêter.

✓ **Une image de DP est caractérisée par :**

La présence d'agglutinats plus ou moins dispersés dans la colonne avec une proportion significative d'hématies situées au bas de la colonne. Ces réactions sont à distinguer de réactions faibles qui peuvent parfois laisser totalement passer des hématies faiblement sensibilisées. En cas de doute, la réalisation d'un test direct en tube avec contrôle microscopique permettra, dans la majorité des cas, de lever l'ambiguïté.

b.7. Contrôle du système analytique :

Seule l'utilisation d'un CIQ quotidien est obligatoire et permet de vérifier la performance globale de la méthode. [13]

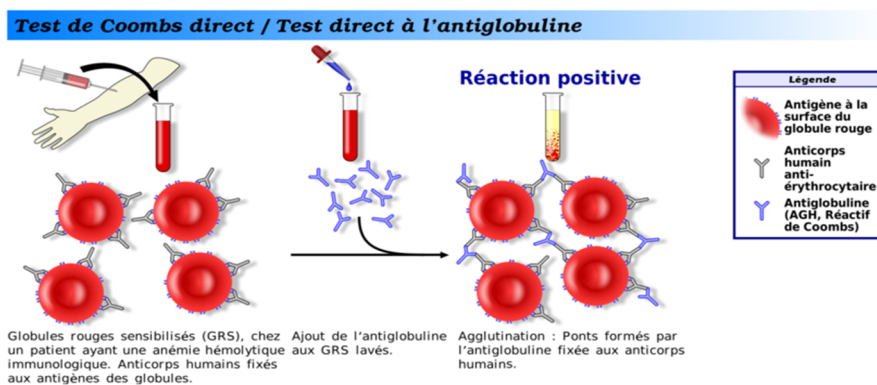


Figure 4 : Test direct à l'antiglobuline

c. Autres techniques :

c.1. Technique d'immunocapture en microplaque :

➔ **principe :** Dans la technique d'immunocapture, la sensibilisation des hématies, qui sont fixées au fond du puits, est détectée par l'utilisation d'hématies révélatrices sur lesquelles est fixée une antiglobuline.

➔ **Les séquences de travail sont les suivantes :**

- lavage préalable des hématies
- mise en suspension érythrocytaire à 0,1%
- répartition et centrifugation de fixation de la suspension
- répartition des hématies révélatrices
- centrifugation de révélation de la réaction

➔ **réaction positive :**

Une image homogène de l'ensemble du puits témoin de *la sensibilisation in vivo* des hématies, correspond à une réaction positive.

➔ **réaction négative :**

L'obtention d'une image en cible avec une concentration centrale des hématies révélatrices correspond à une image négative. Dans cette technique, les opérations de lavage persistent et la visualisation d'une image en DP n'est pas possible.

c.2. Technique en microplaque utilisant des hématies magnétisées :

✓ **Principe :**

Les hématies du patient sont magnétisées extemporanément par la mise en suspension dans une solution magnétisante puis réparties dans le puits. La microplaque est ensuite placée sur un aimant qui, attirant les hématies vers le

fond du puits ; ainsi la centrifugation n'est plus nécessaire. Si les hématies sont sensibilisées, elles se fixent sous forme d'une monocouche homogène sur l'ensemble du puits comme dans la technique d'immunocapture. [14]

VII.2.2. Test d'éluion :

VII.2.2.1. Définition :

Le caractère auto-immun et le type de revêtement érythrocytaire sera souvent précisé à partir de l'épreuve adsorption-éluion avec les globules autologues et des globules homologues.

Cela est parfois nécessaire pour distinguer entre les allo-anticorps en situation pré et post transfusionnelle.

a. Elution directe

a.1. Principes et limites techniques :

Les **échantillons** doivent être anti coagulés et utilisés dans un maximum de 3jours après le prélèvement

a.2. Lavages des hématies :

Les lavages ont pour objectif d'éliminer les anticorps non spécifiquement fixés à la surface de l'hématie. Ils doivent être réalisés dans un tube propre différent du tube primaire. En général, 4 à 6 lavages sont réalisés en solution saline 0,15M et à température ambiante. Le premier piège est le fait de lavages incomplets. Pour l'éviter, l'efficacité des lavages est validée en testant parallèlement et dans les mêmes conditions techniques et de volume (isovolume par rapport à l'éluat) la dernière eau de lavage qui doit s'avérer ne contenir aucun anticorps. Le second piège est lié à des lavages trop nombreux qui peuvent entraîner des micro-éluions d'un anticorps aboutissant à sa perte. Aussi, le nombre de lavages doit être optimal pour réduire ce risque tout en

obtenant une dernière eau de lavage dépourvue d'anticorps. Dans certains cas, on peut proposer des lavages en milieu basse force ionique qui « renforce » la réaction antigène-anticorps et à une température de +4°C qui apparaît moins agressive.

a.3. Transfert des hématies lavées dans un autre tube :

La préparation de l'éluat sera réalisée après transfert dans un autre tube propre. Le risque est ici lié à la fixation des anticorps à la surface du tube. En effet, si l'éluat est préparé dans le tube primaire ou celui qui a été utilisé pour réaliser des lavages, des anticorps non spécifiquement fixés sur les globules rouges peuvent être présents dans l'éluat. Afin d'éviter une élution des anticorps à partir des parois du tube, il est recommandé de transférer les hématies du tube primaire vers un second tube pour le lavage et vers un troisième tube pour réaliser l'éluat. A chaque étape, il conviendra donc de sécuriser l'identification de ces tubes secondaires.

a.4. Elution proprement dite :

Cette phase consiste à mettre en présence les hématies avec le milieu dans lequel se fait l'élution. Lorsque l'élution est réalisée par des procédés thermiques, le milieu de récupération des anticorps utilisé habituellement est une solution saline à 0,15M. Cette mise en contact est ensuite suivie d'une incubation à +56°C durant 20 minutes environ qui détruit les liaisons antigène-anticorps. En cas d'élution par l'acide, l'élution est réalisée dans un milieu acide qui rompt la liaison antigène-anticorps. Cette solution est ensuite tamponnée par une solution alcaline qui permet un retour à un pH compris entre 6,8 et 7,2 propice à la formation des complexes-anticorps et donc aux techniques de RAI. Le volume de l'éluat est en général identique au volume du culot globulaire

(ratio 1/1). Il peut être recommandé, dans certaines conditions, notamment en cas de TDA faiblement positif (intensité < 2+ en tube) ou négatif dans un contexte hémolytique, de concentrer l'éluat en récupérant les anticorps dans un volume inférieur au volume globulaire (ratio 0,5/1). Les risques de cette étape sont de deux ordres. Tout d'abord, le risque de ne pas détecter les anticorps alors que ceux-ci ont été élués. Cela est lié au milieu dans lequel les anticorps ont été récupérés et qui n'est pas propice à leur détection notamment en terme de pH et de force ionique. Cela rappelle la nécessité de respecter les instructions techniques et, en cas d'éluat à l'acide, une attention toute particulière doit être notamment apportée au retour à un pH optimal. Le deuxième risque est lié à l'instabilité de l'éluat. Si l'éluat n'est pas testé immédiatement, il doit être congelé. Dans ces conditions, l'éluat doit être réalisé dans une solution d'albumine à 6% en milieu salin.

a.5. Analyse de l'éluat :

L'analyse de l'éluat correspond à une RAI. Dans certains cas, les panels de dépistage et d'identification doivent être complétés par d'autres hématies.

Les pièges sont essentiellement liés à l'interprétation d'un TDA positif et d'une élution négative.

a.6. Interprétation de l'élution :

*dans les AHAI à auto-anticorps chauds, il est classique d'observer une agglutination de l'ensemble des hématies du panel comme pour le sérum, mais, dans certains cas, les auto-anticorps IgG peuvent être entièrement fixés sur les hématies du patient et être retrouvés uniquement au niveau de l'éluat.

*dans les AHAI à auto-anticorps froids, dans la mesure où seul le complément est présent sur les hématies, l'élution est aussi négative dans l'hémoglobinurie paroxystique à *frigore* : l'auto-anticorps IgG réagit avec les hématies *in vivo* dans les zones corporelles les plus froides et fixe le complément, mais s'élut spontanément dans les zones plus chaudes de la circulation corporelle.

VII.2.3. Etude du sérum :

L'étude du sérum permet de détecter et d'identifier l'auto-anticorps. L'intérêt de cette étude est représenté par la détection d'anticorps de faible affinité ou spontanément élués et donc non détectables par le TDA.

a. Dans 80% des cas des AHAI à auto-anticorps chauds :

Les auto-anticorps chauds sont présents aussi bien libres dans le sérum que fixés sur les GR. Ces anticorps sont mis en évidence par une recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) effectuée en test indirect à l'anti globuline (TAI) ou sur des hématies traitées par des enzymes protéolytiques à +37°C.

Ils reconnaissent classiquement des antigènes de fréquence élevée, anti-RH17 (anti-pdl), anti-RH29 (anti-dl), anti-MNS5 (U). L'image est celle d'une « pan-agglutination » correspondant à l'agglutination de l'ensemble des hématies du panel. Le témoin « autologues », réalisé en testant le sérum du patient vis-à-vis de ses propres hématies dans les mêmes conditions techniques que la RAI, permet de confirmer, par sa positivité, la nature auto-immune de cette agglutination. Il ne peut être interprétable qu'en absence d'épisode transfusionnel récent.

b. dans les AHAI à auto-anticorps froids :

L'étude sérique revêt une importance particulière. Les différents paramètres étudiés sont : le titre, la classe, la spécificité et l'amplitude thermique de l'auto-anticorps. Une attention particulière doit être apportée au prélèvement. Celui-ci doit être maintenu à 37°C jusqu'à décantation du sérum de façon à éviter la fixation des anticorps sur les hématies. Classiquement, la recherche et le titrage des agglutinines froides sont réalisés en technique saline à +4°C (fiche technique n°1). Les autoanticorps froids réagissent plus fortement à +4°C qu'à des températures plus élevées, et les réactions d'agglutinations tendent à disparaître lorsque la température s'approche de +37°C.

La plupart des sujets sains présentent, à l'état physiologique, des autoanticorps IgM de titre inférieur ou égal à 32. Dans les cas classiques d'AHAI à auto-anticorps froids le titre de l'auto-anticorps est très élevé (> 1000 à +4°C), il peut cependant être moindre dans le cadre d'AHAI secondaires à un syndrome infectieux.

Les auto-anticorps froids présentent classiquement une spécificité anti-I1 ou anti-i. la distinction entre auto-anticorps anti-I et auto-anticorps anti-i peut se faire grâce au recours à des hématies de sang de cordon (I-, i+) et d'adultes (I+, i-). Dans tous les cas, l'activité agglutinante augmente lorsque les hématies sont préalablement soumises à l'action des actions protéolytiques. A l'inverse, les auto-anticorps de spécificité anti-Pr (2 à 3% des cas), donnent des réactions négatives lorsqu'ils sont testés vis-à-vis d'hématies traitées par les enzymes.

Il peut être intéressant de titrer à diverses températures (+4°C, +22°C et +37°C) l'activité agglutinante et hémolysante et l'auto-anticorps froid. Ce test est un meilleur marqueur prédictif de la pathogénicité in vivo d'un autoanticorps

froid que son titre : une amplitude thermique large avec des réactions encore nettement positives à +37°C serait corrélée à une hémolyse plus sévère.

Fiche technique n°1

Auto anticorps froids : titrage, analyse de l'amplitude thermique

Objectifs et contexte d'utilisation

Ces analyses s'inscrivent dans le cadre d'un bilan d'anémie hémolytique auto-immune et, en particulier, d'une exploration d'anémie hémolytique à auto anticorps froid (AAF) avec un dépistage d'agglutinines froides (AF) positif (agglutination avec le sérum dilué au 1/5 \geq à 2+)

Nature de l'échantillon et contraintes éventuelles d'acheminement

- 2 tubes secs de sang de 7mL et un tube d'EDTA de 7 ml
- Le prélèvement doit être placé pendant 2 heures à +37°C dès son arrivée au laboratoire et décanté immédiatement à la sortie de l'étuve
- Les tests doivent être effectués dans les 48 heures suivant le prélèvement

Réactifs et matériels

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Microtubes en verre • Pipette pasteur • Microscope 	<ul style="list-style-type: none"> • Solution saline 0,15M • Témoin autologues : hématies du malade (Auto) natives et papainées à 4% en solution saline 0,15M • Hématies-test natives et papainées à 4% en solution saline 0,15M : <ul style="list-style-type: none"> - Hématie d'un sujet adulte (AD) considérées comme I positif, i négatif) de groupe O - Hématies d'un nouveau-né (NNé) (considérées comme I négatif, i positif) de groupe O

Méthodes :

1. dépistage

tester le sérum du patient pur et dilué au 1/5 en solution saline à 0,15M vis-à vis des hématies AD Auto et NNé traitées et non traitées par la papaïne

2. le titrage est réalisé sur hématies papainées et/ou natives en fonction du résultat du dépistage

- Préparer 2fois 3 séries de microtubes de verre en vue de titrer le sérum à + 4°C et +37°C :

- 1 série testée avec les globules rouges (GR) « adultes » (AD) papainés ou natifs à +4°C et +37°C
- 1 série testée avec les GR « nouveau né » (NNé) papainés ou natifs à +4°C et +37°C
- 1 série testée avec les GR du malade (Auto) papainés ou natifs à +4°C et à +37°C

- Réaliser une dilution géométrique de raison 2 du sérum en salin sur 10 tubes sous un volume de 0,5 mL
- Distribuer une goutte (50µL) de chaque dilution dans chacune des séries +4°C et +37°C

Série à +4°C

- Pré-incuber les réactions 15 minutes à +4°C
 - Distribuer une goutte (50µL) de chaque hématie dans chacune des séries 4°C
 - Incuber 2 heures à + 4°C
 - Pas de centrifugation
 - Lecture au microscope sur lames à +4°C
 - Noter le titre à +4°C
- Série à + 37°C
 - Pré-incuber les réactions 15 minutes à +37°C
 - Distribuer une goutte de chaque hématie dans chacune des séries +37°C
 - Incuber 1 heure à + 37°C
 - Pas de centrifugation
 - Lecture au microscope sur lames à +37°C
 - Noter le titre à + 37°C

Interprétation du résultat de la méthode

- En complément, la série à + 37°C peut être réalisée après traitement par le dithiothréitol (DDT) confirmant la classe de cet anticorps. Ce sera le cas devant un test direct à l'antiglobuline (TDA) mixte associé à une recherche d'anticorps irréguliers (RAI) positive à + 37°C et un titrage identique à + 37°C et +4°C
- Si le titre sur les globules rouges (GR) du patient est supérieur à celui des GR AD homologues, on suspecte une spécificité autoanti-AI ou autoanti-BI selon le groupe ABO du malade, qui sera confirmé en testant sur des GR AD et Nné de même groupe ABO que celui du patient
- Si les réactions sont positives en saline (au dépistage) et négatives sur GR papainés, tester le sérum vis-à-vis de GR MNS1 (M) homozygotes et MNS2 (N) homozygotes. S'il n'apparaît pas de spécificité dans ce système, rechercher une spécificité anti-Pr

c. Recherche de l'hémolysine biphasique :

Le test de Donath-Landsteiner permet le diagnostic de l'hémoglobinurie paroxystique à *frigore*. Il sera pratiqué chez tout sujet ayant un syndrome hémolytique et un TDA de type complément.

Il repose sur une incubation à +4°C des hématies-test dans le sérum du patient (permet la fixation de l'anticorps IgG suivie de celle du complément), le mélange réactionnel est ensuite soumis à une étape de réchauffement à +37°C qui déclenchera l'hémolyse. L'utilisation d'hématies-test provenant des sujets atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne, moins aptes à inhiber l'activation du complément, sensibilise la détection de l'anticorps (fiche technique n°2).

L'auto-anticorps IgG est classiquement de spécificité anti- GLOB1 (anti-P). Une alternative au test précédent consiste à tester le sérum du patient, dans les conditions de température adéquates vis-à-vis d'hématies rares de phénotype GLOB :-1,-2(Tj^a ou p) ou GLOB :-1,2(pk) non reconnues par l'auto-anticorps.

Fiche technique n°2

Exploration d'hémolyse biphasique (PCH : hémolyse froide paroxystique)

Objectifs et contexte d'utilisation

Ce test est réalisé dans le cadre d'une anémie hémolytique auto-immune (AHAI) chez

- Un enfant ou un adulte jeune ayant eu une infection récente
- Un adulte atteint de syphilis chronique

Nature de l'échantillon et contraintes éventuelles d'acheminement

- Tube sec maintenu idéalement à + 37°C jusqu'à décantation du sérum pour empêcher la fixation de l'anticorps sur les hématies du sujet (faux négatif). A défaut, incuber le tube 2 heures à + 37°C avant décantation en espérant obtenir l'élution de l'anticorps fixé
- L'analyse est réalisée dans les 24 heures qui suivent le prélèvement

Réactions et matériels

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Tubes à hémolyse• Pipette Pasteur• Bac avec glace ou centrifugeuse thermostatée à 0°C• Bain-marie +37°C	<ul style="list-style-type: none">• Sérum AB frais (source de complément) :<ul style="list-style-type: none">- Prélèvement d'une poche de sérum AB chez un donneur de sang sur un dispositif sans anticoagulant. L'ensemble des tests microbiologiques de qualification biologique du don (QBD) doivent donner des résultats négatifs- Centrifugation, séparation, aliquotage en tube de 2 ml et congélation à -30°C dans les 4heures qui suivent le prélèvement (utilisable 6mois)• Hématies-test O papäinisées P1, P2 du panel à 4% et si possible GLOB : -1,2 (Pk) et GLOB : -1, -2 (pp)

Méthode

Recherche d'hémolysine biphasique (test de Donath –Landsteiner)

- Diluer 2 ml de sérum du patient avec 2 ml de sérum AB frais
- Préparer 4 séries de 3 tubes
- Dans 3 séries de tubes, déposer 250 µL de sérum reconstitué et 50 µL d'hématies-test papainisées à 4% en solution saline 0,15M
- Dans une série déposer 250 µL de sérum AB frais et 50µL hématies-tests papainisées à 4% en solution saline 0,15M
- Incuber selon le tableau ci-dessous

	HT P1	HTP2	Globule rouge du patient	Incubation (°C)	
				120 min puis 60	
Série 1	Sérum reconstitué (SR)	SR	SR	0	37
Série 2	SR	SR	SR	0	0
Série 3	SR	SR	SR	37	37
Série 4	SAB	SAB	SAB	0	37

- Après 120 minutes d'incubation, remettre en suspension douce les globules rouges (GR) avant la 2ème incubation de 60 minutes
- Après la deuxième incubation, remettre à nouveau en suspension les GR sédimentés
- Centrifugation 1 minute à 170 g
- Lecture visuelle de l'hémolyse

Interprétation du résultat de la méthode

- Les séries 2, 3 et 4 doivent être négatives (absence d'hémolyse). Une hémolyse dans la série 1 signe un PCH
- Une hémolyse dans la série 3 indique la présence d'une hémolysine monophasique puissante dans le cadre d'une anémie hémolytique auto-immune qui pourra être confirmée par l'absence d'hémolyse après traitement du sérum par le DTT
- Confirmation éventuelle de la spécificité anti-GLOB2 (anti-P) en refaisant le test avec des hématies de phéno-type GLOB : 1,2 (pp) ABO compatibles décongelées à la demande

VII.3. Exploration immuno-hématologique à visée transfusionnelle : [15]

Ce bilan immuno-hématologique effectuée dans le cadre d'une indication transfusionnelle chez un patient souffrant d'AHAI pose des problèmes spécifiques rarement rencontrés lors des tests prétransfusionnels pratiqués en routine. Une collaboration doit être instaurée entre le laboratoire d'immuno-hématologie et l'équipe médicale en charge du patient, consciente des différentes rencontrées.

Les antécédents transfusionnels et obstétricaux doivent être documentés, de même que le degré d'urgence de la transfusion.

VII.3.1. Détermination du phénotype érythrocytaire du patient.

Alors que la détermination du groupe ABO-RH1 et du phénotype RH-KEL1 ne présente pas, en général, de problème chez un patient souffrant d'AHAI à auto-anticorps chauds, des difficultés peuvent survenir en présence d'un auto-anticorps froid actif à + 22°C. Le problème d'auto-agglutination des hématies du patient peut être résolu en maintenant les échantillons sanguins à + 37°C après le prélèvement ou par lavages répétés de celles-ci à +37°C. Le témoin AB devenu négatif, l'interprétation de l'épreuve globulaire devient possible. Les problèmes d'interprétation de l'épreuve plasmatique ABO peuvent être évités en préincubant les hématies-test et le plasma du patient à + 37°C ou en utilisant le plasma adsorbé à froid sur les hématies autologues.

VII.3.2. Détermination du phénotype étendu.

La connaissance du phénotype étendu (FY, JK, et MNS) s'avère très utile pour la prise en charge de ces patients. Cela permet, en particulier, de connaître

et de respecter les antigènes majeurs vis-à-vis duquel le patient a pu ou pourrait s'immuniser. Si le phénotype étendu est réalisé en test indirect à l'antiglobuline (TIA), technique classique pour bon nombre de réactifs disponibles dans le marché, les résultats peuvent apparaître faussement positifs lorsque les hématies du patient sont recouvertes d'auto-anticorps de classe IgG.

Certains réactifs monoclonaux de type IgM actifs en technique saline peuvent être utilisés, mais ils ne sont pas disponibles pour l'ensemble des antigènes des systèmes immunogènes.

La présence d'auto-anticorps froids de titre élevé peut rendre le phénotypage impossible aussi bien par les réactifs actifs en TIA que par les réactifs monoclonaux IgM. Par ailleurs si le patient a été transfusé récemment (dans les 4 mois précédents) le phénotypage érythrocytaire est irréalisable, puisque deux populations de GR coexistent celle du receveur et celle du donneur du sang. Or, il est essentiel de disposer du phénotype étendu au minimum FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), JK1 (Jk^a), JK1 (Jk^b), MNS3 (S), MNS4 (s), pour le suivi immuno-hématologique de ces patients. La technique de choix consiste alors en la réalisation du génotypage érythrocytaire.

VII.3.3. Recherche d'anticorps anti érythrocytaire

La recherche d'anticorps irréguliers anti érythrocytaires détecte aussi bien les allo-anticorps que les auto-anticorps. Dans le cadre des AHAI à auto-anticorps chauds, et parfois à auto-anticorps froids d'amplitude thermique large encore actifs à + 37°C, l'ensemble des hématies du panel sont agglutinées par la présence de l'auto-anticorps associés d'intérêt transfusionnel ne sera pas visible de prime abord, ces derniers étant masqués par l'auto-anticorps. Cette éventualité n'est pas rare. Dans une étude récente, un ou plusieurs allo-anticorps

ont été détectés dans le sérum dans 32% des sujets présentant un AHAI avec historique transfusionnel et/ou obstétrical. Il est absolument indispensable, pour assurer la sécurité immunologique des transfusions, d'engager des explorations biologiques complémentaires permettant l'identification d'allo-anticorps potentiellement masqués, comme les techniques d'adsorption, ou de traitement de sérum par le dithiothreitol (DTT).

VII.3.4. Techniques d'adsorption

➤ **L'adsorption sur les hématies autologues, dénommé « autoadsorption »**

Consiste en la mise en présence *in vitro* à + 37°C du sérum du patient avec ses propres hématies. Elle représente la méthode de choix pour rechercher la présence d'éventuels allo-anticorps masqués. Ceux-ci ne pourront pas, en effet, se fixer sur les hématies du patient qui, par définition, ne portent pas l'antigène correspondant. Afin d'améliorer le pouvoir d'adsorption, les hématies peuvent être traitées par une enzyme telle que la papaïne, ou par un réactif dénommé « ZZAP » à base de papaïne cystéine activée à une concentration de 0,1% et de DDT 0,2M (Fiche technique n°3). Ce mélange permet l'élution des auto-anticorps fixés à la surface des GR *in vivo*. L'épreuve d'adsorption est répétée en général 3 à 6 fois selon le titre de l'auto-anticorps à adsorber. L'adsorbat obtenu au final est sujet à une RAI classique et sera conservé pour les tests ultérieurs de compatibilité directe au laboratoire.

La technique d'adsorption sur les hématies autologues présente ses propres limites. La première réserve, essentielle à respecter, et qu'il n'est pas possible de recouvrir à l'adsorption sur hématies autologues dans un contexte transfusionnel (par définition, dernière transfusion datant de moins de 4 mois). Il existe alors,

en effet, un mélange d'hématies autologues (patient) et homologues (donneur) avec le risque d'adsorber les éventuels allo-anticorps du patient sur les hématies récemment transfusées pouvant présenter l'antigène correspondant, ce qui pourrait conduire à un résultat faussement négatif lors de la RAI. Par ailleurs, il est nécessaire, pour la mise en œuvre de cette technique, de disposer d'une quantité suffisante de GR du patient, ce qui parfois est impossible dans le cadre d'AHAI sévère avec faible hématoците.

La capacité d'adsorption des hématies autologues est limitée, les sites antigéniques érythrocytaires peuvent être saturés *in vivo* par un auto-anticorps puissant et, malgré les traitements adjuvants (papaïne, ZZAP), il reste peu de sites accessibles pour la fixation d'auto-anticorps supplémentaires *in vitro*

Enfin, la réalisation de plusieurs adsorptions successives peut conduire à une dilution de l'adsorbat à chaque étape avec le risque de perte de sensibilité vis-à-vis d'un allo-anticorps de titre faible.

➤ **L'adsorption sur hématies homologues dénommée « alloadsorption »**

Consiste en la mise en présence *in vitro* à +37°C du sérum du patient avec des hématies du donneurs judicieusement sélectionnées. La méthode de référence consiste au choix de 3 hématies du groupe O, respectivement de phénotype RH : 1, 2,-3, -4, 5, RH : 1,-2, 3, 4,-5, RH : -1,-2,-3,4,5 avec au moins l'une d'entre elles KEL1 ; une JK :-1,2, et une JK1,-2. Ces trois hématies sont traitées par la papaïne, le respect des phénotypes FY et MNS n'est donc pas requis, les antigènes FY1, FY2, MNS1, MNS2, MNS3 et MNS4 étant alors détruits. Il est alors réalisé des épreuves d'adsorption différentielles sur les 3 hématies test répétés 3 à 6 fois. Une partie de chacun des allo-adsorbats est réservé pour les tests ultérieurs de compatibilité directe au laboratoire des unités

de GR à transfuser, l'autre partie sera testée pour une RAI, les éventuels allo-anticorps anti-RH (anti-RH1, anti-RH2, anti-RH3, anti-RH4 et anti-RH5), anti-KEL1, anti-JK1, anti-JK2 ne se fixeront que sur les hématies adsorbantes présentant l'antigène correspondant, mais resteront libres dans l'adsorbat en l'absence de l'antigène-cible. Par ailleurs, les éventuels allo-anticorps des systèmes FY et MNS resteront libres dans les 3 allo-adsorbats. L'analyse du profil de réactivité des adsorbats sur un panel classique d'hématies-test, ainsi que la prise en compte du profil antigénique de chaque cellule adsorbante, permettant l'identification des allo-anticorps anti-érythrocytaires. Cette technique d'adsorption peut être simplifiée si le phénotype érythrocytaire ABO, RH, KEL et JK du patient peut suffire.

La technique d'allo-adsorption présente des avantages certains. Elle est la seule à être utilisée dans un contexte transfusionnel. Elle est indépendante de la disponibilité des hématies du patient et offre, par l'utilisation d'hématies homologues natives, non sensibilisées *in vitro*, une capacité d'adsorption plus importante que les hématies autologues. Toutefois, cette technique présente plusieurs inconvénients. La disponibilité des hématies adsorbantes et la lourdeur de la technique imposant un délai de réalisation et d'interprétation long, peu compatible avec l'urgence. Par ailleurs, elle peut entraîner l'adsorption d'un éventuel allo-anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevé (anticorps anti-public) chez un patient présentant un groupe sanguin rare ; cette situation est peu fréquente mais doit être connue. Enfin, la spécificité des allo-anticorps identifiable dans l'adsorbat est restreinte aux seuls allo-anticorps courants d'intérêt transfusionnel.

Fiche n°3

Techniques d'adsorption d'anticorps : auto et allo-adsorption sur hématies natives ou traitées par les enzymes ou le ZZAP en milieu basse force ionique ou non

Objectif et contexte d'utilisation

- Une auto-adsorption est réalisée pour
 - Confirmer le caractère « auto » de réactions spécifiques ou non spécifiques avec témoin autologues positif ou non lors de la recherche d'anticorps irréguliers (RAI)
 - Pouvoir détecter des alloanticorps après adsorption d'autoanticorps
- Une alloadsorption est utilisée pour permettre la détection d'alloanticorps après adsorption :
 - D'autoanticorps
 - D'alloanticorps agglutinant la majorité ou la totalité des hématies : mélange ou anticorps reconnaissant un antigène de haute fréquence
- Il existe de nombreuses variantes dans les techniques d'adsorption en fonction
 - Du milieu réactionnel utilisé : basse force ionique ou en présence de polyéthylène glycol (PEG). L'adjonction de ces 2 milieux provoque une dilution au ½ de l'adsorbat mais :
 - ✓ Augmente la vitesse ou le rendement de fixation de l'anticorps sur son antigène spécifique
 - ✓ Permet d'être plus efficace quant au nombre d'adsorptions et leur durée d'incubation
 - ✓ Remarque : cependant les techniques de RAI comportant l'utilisation d'hématies en solution de conservation nécessitant l'adjonction de solution Liss. Lors de la réalisation de la RAI, la suppression de l'addition de Liss et l'utilisation de 2 volumes d'adsorbat permettent d'éviter cet effet dilution
 - Du traitement ou non des hématies adsorbantes :
 - ✓ Lorsque la réaction préférentielle de mise en évidence de l'anticorps (auto ou allo) est la technique enzymatique, son adsorption sera plus efficace avec des hématies traitées avec la papaïne. Le traitement par la papaïne permet aussi, par la destruction des antigènes FY1/FY2 (FY3 n'est pas détruit) et en fonction des solutions d'enzymes, des antigènes MNS3/MNS4, de ne pas tenir compte de ceux-ci pour la sélection de l'hématie adsorbante et de se limiter à un phénotype RH-KEL-JK compatible avec celui du patient
 - ✓ Le ZZAP est un mélange de papaïne cystéine 1% et de dithiothréitol (DDT pH 8 à 0,2M). il est utilisé pour dissocier des anticorps IgG (auto ou allo) fixés sur des hématies. La réduction de la sensibilisation des hématies du patient les rend donc plus efficaces pour les autoadsorptions compte tenu de la réduction du niveau de saturation des sites antigéniques par un autoanticorps

Nature de l'échantillon et contraintes éventuelles d'acheminements

Deux ou trois tubes de 7ml sur EDTA ou su tube sec traités dans la semaine suivant le prélèvement

Réactifs et matériels

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">• Tubes à hémolyse• Etuve à +37°C• Incubateur à +37°C• Centrifugeuses (tubes et supports de filtration)• Micropipette	<ul style="list-style-type: none">• Pour une alloadsorption : hématies adsorbantes sélectionnées : prêtes à l'emploi ou préparées extemporanément• Pour une autoadsorption : hématies du patient traitées extemporanément• Support de microfiltration• Panels de dépistage et d'identification, voire de référence : suspension adaptée à la technique de RAI• Solution saline 0,15M• Solution basse force ionique (Liss) adéquate (validée pour la technique considérée)• Papaïne EFS®• DDT pH 8 à 0,2M

Méthode

1. Préparation des hématies du patient pour une auto adsorption

- Laver 3 fois en solution saline 0,15M à +37°C 2ml de culot globulaire

En cas de traitement enzymatique

- incuber séparément les globules rouges (GR) et la papaïne 15 minutes à +37°C (5 volumes de GR et 1 volume de papaïne).
- mettre en contact les GR et la papaïne dans un tube (5volumes/1 volume),
- incuber le mélange 10 minutes à +37°C,
- laver 3 fois en solution saline 0,15M

En cas de traitement par le ZZAP :

- ZZAP= 5ml de DTT 0,2M décongelé extemporanément + 1ml de papaïne + 4ml de tampon
- mélanger 1 volume GR + 2 volumes de solution ZZAP,
- incuber 30 minutes à + 37°C en mélangeant occasionnellement,
- laver 3 fois en solution saine 0,15M

- Réaliser la dernière centrifugation pendant 10 minutes à 2000 g avec une décantation maximale du surnageant à la micropipette
 - Déposer ce volume de culot lavé dans un tube en verre
2. Préparation des hématies pour une alloadsorption
- Sélectionner la ou les hématies
 - Laver 3 fois en solution saline à +37°C 3ml de culot globulaire (volume à adapter en fonction du nombre d'adsorptions)
 - En cas de traitement enzymatique,
 - Réaliser la dernière centrifugation pendant 10 minutes à 2000g avec une décantation maximale du surnageant à la micropipette
 - Déposer ce volume de culot lavé dans un tube en verre
3. Adsorption
- Dans un tube, à 1 volume de culot globulaire d'hématies adsorbantes, ajouter 1 volume de sérum à adsorber. Ajouter éventuellement 1 volume de solution Liss si l'anticorps à adsorber a une intensité > 1+
 - Incuber le tube bouché et couché 20 minutes à +37°C ou à +4°C (suivant les circonstances)
 - Centrifuger 10 minutes à 2000g
 - Décanter le surnageant (adsorbat) et le transférer dans le tube suivant puis recommencer comme ci-dessus sans Liss
 - Répéter l'opération (si besoin) une troisième fois
- Contrôle de l'efficacité de l'adsorption
- Réaliser une épreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDCL) avec le sérum adsorbé sur l'hématie adsorbante en test indirect à l'antiglobuline (TIA) et en technique enzymatique
 - L'adsorption sera considérée comme réussie si l'EDCL donne une réaction négative dans les 2 techniques
- Interprétation du résultat de la méthode
- Le sérum adsorbé est utilisé pour mettre en évidence la présence éventuelle d'alloanticorps masqués par les autoanticorps. Les techniques utilisées sont celles de la RAI.

VII.3.5. Traitement du sérum par le DDT :

Dans le cadre d'AHAI à auto-anticorps froids, d'amplitude thermique large perturbant la RAI à + 37°C, une adsorption réalisée à froid (+4°C) sur hématies autologues ou homologues permet en général d'éliminer l'auto-anticorps et de rechercher la présence d'allo-anticorps dans l'adsorbat. Il est également possible

de traiter le sérum du patient par le DTT 0,01M, clivant les ponts disulfures des IgM, tout en conservant les IgG intègres (Fiche technique 4). Cependant, la dilution du sérum au demi, imposée par cette technique, entraîne un risque de faux négatifs pour les allo-anticorps IgG de faible titre potentiellement masqués par l'auto-anticorps IgM.

Fiche technique n°4

Traitement d'un sérum par le dithiothréitol (DDT) 0,01M à pH7, 3

Objectif et contexte d'utilisation

- Cette méthode permet, en cas d'indisponibilité d'hématies informatives au cours de la recherche d'anticorps irréguliers (RAI), la détection et l'identification d'alloanticorps de classe IgG après destruction d'anticorps interférents de nature IgM qu'il s'agisse
 - D'autoanticorps provoquant une agglutination de toutes les hématies du panel avec un témoin autologue positif et un test direct à l'antiglobuline (TDA) et de type C3d
 - Ou d'anticorps « naturels irréguliers » (anti-LE1, anti-LE2, anti-P1, anti-HI)
- Cette technique peut également être utilisée pour déterminer la classe d'anticorps

Nature de l'échantillon et contraintes éventuelles d'acheminement

Un tube de 7 ml de sang prélevé sur EDTA ou sur tube sec

Réactifs et matériels

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Tubes à hémolyse • Etuve à +37°C • Incubateur à +37°C • Centrifugeuses (tubes et supports de filtration) • Micropipette et précision 	<ul style="list-style-type: none"> • Diothiothréitol (DTT) • Tampon phosphate (TP) à pH 7,3 • Support de filtration pour test indirect à l'antiglobuline (TIA) • Solution Liss (basse force ionique) • Panel de dépistage, panels d'identification et de référence en solution Liss adaptée à la technique de RAI en vigueur au laboratoire

Méthode

1. Traitement du sérum

- Décongeler à température ambiante le DTT et le TP
- Identifier 2 tubes
- Distribuer dans chaque tube 1 volume de sérum
- Distribuer 1 volume de DTT dans l'un des 2 tubes (sérum traité)
- Distribuer 1 volume de TP dans le tube (sérum non traité)
- Incuber les 2 tubes 30 minutes à +30°C

Remarque : le témoin TP est nécessaire lors de la caractérisation de la classe IgM d'un anticorps. Il est moins primordial pour la RAI après élimination d'éventuels anticorps de classe IgM car, dans ce cas, l'objectif est de rechercher des alloanticorps IgM masqués

2. Distribution du sérum traité et du sérum non traité sur support de microfiltration

- Identifier 2 séries de supports : l'un pour le sérum traité et l'autre pour le non traité
- Répartir les hématies-test dont le volume est conforme à la notice technique
- Répartir les sérums traité et non traité dans les tubes correspondants sous un volume égal à deux fois celui prévu par la notice technique afin de réduire l'effet dilution
- Incuber ensuite les supports puis les centrifuger conformément aux préconisations de la notice

Contrôle et limites de la technique

Les contrôles internes de qualité (CIQ) sont ceux de la RAI

Interprétation du résultat de la méthode

- Dans le cadre de la recherche d'alloanticorps masqués par un autoanticorps ou d'un alloanticorps de classe IgM : l'interprétation est celle d'une identification habituelle avec les limites des conclusions négatives liées à un effet de dilution néanmoins réduit par l'adjonction d'un double volume de plasma
- Dans le cadre de la définition de la classe d'anticorps :

Sérum traité (DDT)	Sérum non traité (TP)	Conclusion
Négatif	Positif	IgM
Négatif	Négatif	Interprétable : effet dilution
Positif	Positif	Non IgM

Tableau 1 : Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques

Diagnostic biologique différentiel des différents types d'anémies hémolytiques auto-immunes.				
	AHAI à auto-anticorps chauds	AHAI à auto-anticorps froids	AHAI de type mixte	Hémoglobinurie paroxystique à frigore
Auto-anticorps	IgG (rarement IgM ou IgA)	IgM	IgG et IgM	IgG biphasique
Présentation clinique	Variable : hémolyse extra-vasculaire prédominante	Anémie modérée Hémolyse intra-vasculaire possible	Cliniques des AHAI à anticorps chauds, ou anticorps chauds et froids	Phase inaugurale brutale Anémie sévère Hémolyse intra-vasculaire
Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires	Profil typique : anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Négative à +37°C, sauf si anticorps de large amplitude thermique	Profil typique : anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Négative à + 37°C
Test direct à l'antiglobuline	IgG (67%), IgG+C3 (24%), C3(7%), IgA(2,7%)	C3 (> 90%)	IgG + C3 (> 70%)	C3 (> 95%)
Eluat	Anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Non réactif	Anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Non réactif
Investigations et résultats complémentaires	Phéno-typage ou génotypage étendu (FY, JK et MNS) Adsorption sur hématies autologues ou homologues	Titrage (≥64 à +4°C) Amplitude thermique Auto-adsorption à +4°C DDT	Faible titre de l'IgM à +4°C (< 64) mais amplitude thermique large	Test de Donath-Landsteiner
Spécificité auto-anticorps classique	Anticorps à composante anti-RH (anti-RH29, anti-RH17, anti-RH1, anti-RH5, etc.)	Anti-I (anti-I1) Anti-i		Anti-P
Eléments de gravité	Présence IgG3 Plusieurs sous-classes d'Ig+C3 à la surface GR Persistance TDA positif	Anti-i Intensité du TDA C3d Amplitude thermique large Hémolysine sérique		Amplitude thermique large
Etiologie	-Idiopathiques (50% des cas) -Secondaires : LLC, lymphome, maladies auto-immunes systémiques.	-Secondaires à : .infection à Mycolasma pneumoniae, .infections virales -Maladies malignes (maladies lymphoprolifératives)	Maladies auto-immunes LED	Idiopathiques secondaires à des infections virales, syphilis, Mycoplasma pneumoniae

VII.4. Le diagnostic étiologique des anémies hémolytiques auto-immunes

VII.4.1. Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps chauds :

Elles représentent 60 à 70% des cas. Les plus fréquentes correspondent aux anticorps chauds non hémolysants *in vitro*, donnant un TCD de type IgG ou IgG+ C3d, ayant une spécificité Rh ou pseudo-Rh et responsables d'hémolyses extravasculaires (**destruction splénique**).

Dans 60% des cas, ces AHAI sont idiopathiques (ou primitives). Plus rarement elles sont associées à une prolifération lymphoïde, une maladie auto-immune ou sont induites par un médicament.

Exceptionnellement, un anticorps chaud très hémolysant donnera un TCD de type C3d dû à une IgM réagissant à chaud responsable de tableaux sévères d'hémolysine intravasculaire. [16]

Tableau2 : Principales maladies ou circonstances pouvant être associées aux anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) à anticorps « chauds » : AHA1 « secondaires »

Hémopathies et maladies lymphoprolifératives :

Leucémie lymphoïde chronique
Leucémie aiguë lymphoblastique
Lymphome non hodgkinien à cellules B
Lymphadénopathie angio-immunoblastique
Lymphome de Hodgkin
Maladie de Castelman
Myélodysplasies
Myélofibrose

Autres tumeurs :

Thymome
Kyste dermoïde de l'ovaire
Carcinomes
Histicytose sinusale de Rosal-Dorfman

Maladies auto-immunes ou inflammatoires :

Lupus systémique
Syndrome primaire des antiphospholipides
Polyarthrite rhumatoïde
Rectocolite hémorragique
Maladie de Biermer
Myasthénie
Hépatite auto-immune
Thyroïdites
Sarcoïdose
Fasciite de Shulman

Infections :

Mononucléose infectieuse
Infections chronique par le virus de l'hépatite C
Tuberculose
Brucellose
Syphilis

Médicaments :

Déficits immunitaires primitifs :

Déficit immunitaire commun variable
Syndrome lymphoprolifératif auto-immun (ALPS)
Syndrome IPEX (dérèglement immunitaire, polyendocrinopathie, entéropathie, lié à l'X)

Autres circonstances :

Grossesse
Insuffisance rénale chronique
Suites d'allogreffe de moelle.

VII.4.1.1. Cas particulier des AHAI à auto-anticorps chaud : Le syndrome d'Evans : [17]

a. Définition

Depuis sa première description en 1951, le syndrome d'Evans (SE) se définit *stricto sensu* par la survenue, simultanée ou décalée dans le temps, d'une thrombopénie auto-immune et d'une AHAI et / ou d'une neutropénie auto-immune (NAI) qui s'y associe dans environ 50% des cas. Par analogie avec les AHAI et le PTI (purpura thrombopénique idiopathique), et contrairement à une idée répandue dans la littérature, la définition du SE ne doit pas préjuger nécessairement de son caractère « idiopathique ». Il s'agit en effet d'une association particulièrement rare de plusieurs cytopénies auto-immunes, dont l'incidence exacte n'est pas connue (0,3 à 2% des PTI/AHAI de l'adulte).

b. Physiopathologie :

Le SE peut survenir à tout âge, de façon isolée (SE « idiopathique ») ou en association à une autre maladie auto-immune (Lupus systémique [LS] surtout), un déficit immunitaire de type commun variable ou encore un lymphome malin non hodgkinien (LMNH). En dehors des défauts d'apoptose dépendante de Fas chez les enfants atteints d'un SE dans le cadre d'un syndrome ALPS (Auto-immune lymphoproliférative syndrome), la physiopathologie du SE « idiopathique » est en grande partie méconnue mais elle implique probablement des défauts « intrinsèques » des lymphocytes B et/ou des signaux de costimulation B-T.

c. Diagnostic et caractéristiques :

Dans le cadre du SE, le diagnostic d'AHAI repose sur la même démarche et les mêmes critères que ceux décrits précédemment dans le cadre d'une AHAI à anticorps « chauds » isolée. En ce qui concerne la thrombopénie, il s'agit, tout comme le diagnostic de PTI « classique », essentiellement d'un diagnostic d'exclusion. A l'inverse du PTI « classique », une splénomégalie modérée peut néanmoins s'observer au cours du SE (indépendamment d'une hémolyse active), et ce notamment en cas de syndrome lymphoprolifératif associé, sans que cela ne remette en cause le diagnostic. Le principal diagnostic différentiel à envisager lorsque les 2 cytopénies surviennent en même temps est celui d'un purpura thrombopénique thrombopathique (PTT) ou plus généralement d'une microangiopathie thrombotique (MAT), certaines situations (lupus, grossesse, etc.) pouvant en effet se compliquer d'un SE comme d'une MAT. L'analyse précise du frottis à la recherche de schizocytes est par conséquent un élément capital dans la démarche diagnostique. Comme pour les AHAI à anticorps « chauds » idiopathiques, en absence d'arguments pour une hémopathie lymphoïde sous-jacente ou d'atypie sur la numération formule sanguine (neutropénie profonde, myélémie, réticulocytes bas, etc.) et le frottis sanguin, la réalisation systémique d'un myélogramme se justifie en revanche chez les patients de plus de 60 ans, lorsque la thrombopénie précède l'AHAI, afin d'éliminer une notamment myélodysplasie sous-jacente. Enfin la recherche d'anticorps anti-plaquettes et/ou anti-granuleux, tests peu spécifiques, n'est pas indispensable pour le diagnostic de SE.

Très peu de données sont disponibles dans la littérature chez l'adulte et les caractéristiques et les modalités évolutives du SE sont de fait en grande partie méconnues.

VII.4.2. Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps froids [18]

VII.4.2.1. Classification :

Les AF peuvent exister de manière transitoire ou permanente :

- **Les AF « transitoires »**

Sont décelées dans certaines infections aiguës, ou elles sont habituellement hétérogènes. L'électrophorèse du sérum ne montre pratiquement jamais de bande homogène ; cependant, malgré la présence à la fois des chaînes légères κ et λ , l'hétérogénéité des AF est restreinte. Quelques cas d'AF monotypes IgM κ ont été rapportés au cours de maladies infectieuses.

- **Les AF « permanentes »**

Sont observées dans les proliférations lymphoplasmocytaires mais aussi dans d'autres affections malignes. L'électrophorèse du sérum montre leur caractère habituellement homogène sous forme d'une bande étroite ou d'un pic. L'immunoélectrophorèse ne détecte qu'un seul type de chaîne légère. La grande majorité de ces AF monotypes sont de classe IgM avec une chaîne légère κ . Cependant, les IgM λ , des IgA κ et des AF mixtes IgM/IgG ont également été décrites.

Les AF IgM ne constituent qu'une partie des IgM totales circulantes. Les AF hétérogènes n'en constituent qu'une proportion insignifiante, tandis que les AF homogènes représentent 33% à 95% des IgM totales. La chromatographie

des AF homogènes montre de manière constante une seule classe de chaîne lourde et un seul type de chaîne légère.

Il existe en outre une relation entre, d'une part, la sous-classe de la chaîne lourde et le sous-type de la chaîne légère, et d'autre part, la spécificité antigénique de l'AF. Les AF IgA appartiennent le plus souvent à la sous-classe I de la chaîne α et ont une chaîne légère κ . Leur spécificité est invariablement dirigée contre les déterminants antigéniques Pr1. On a décrit des formes polymériques d'AF IgA de 10,50S, dont la réduction et l'alkylation abolissent l'activité. Les AF IgA ne semblent pas fixer le complément, contrairement aux AF IgM.

On a décrit chez des enfants ayant une anémie hémolytique aiguë transitoire des AF IgG réagissant avec le complexe antigénique Pr, étiquetés anti-Pra.

Les AF mixtes IgG-IgM sont rares, observées dans la mononucléose infectieuse et dans la lymphadénopathie angio-immunoblastique.

Beaucoup d'AF sont cryoprécipitantes. La majorité d'entre elles sont monoclonales et vues le plus souvent dans les affections malignes. Plus rares sont les cryoglobulines à caractère hétérogène. La proportion des AF IgM cryoprécipitantes à chaîne légère λ semble plus élevée que celle à chaîne légère κ . De même, ces AF cryoglobuliniques sont souvent dirigées contre les antigènes non-Ii.

On attribue la spécificité I aux AF qui réagissent avec les globules rouges d'adulte beaucoup plus fortement qu'avec les globules rouges de cordon ou de nouveau-né. A l'inverse, la spécificité i caractérise les AF qui réagissent surtout avec les globules rouges de cordon.

D'autres antigènes différents d'Ii sont parfois les cibles des AF. Dans ces cas, la réactivité des globules rouges d'adulte est égale à celles du cordon

Un exemple de relation entre la classe de l'immunoglobuline et sa spécificité est fourni par le fait que toutes les AF de nature IgA sont dirigées contre les déterminants du groupe antigénique Pr. Autres exemples, les AF IgM à chaîne légère κ sont habituellement dirigées contre l'antigène I, alors que les AF IgM λ sont plutôt dirigées contre l'antigène i ou des antigènes non Ii. On a rapporté quelques AF de nature IgG dirigées contre les déterminants Pr.

Les idiotypes des diverses AF se sont révélés différents, même si certaines d'entre elles partagent des déterminants antigéniques communs. On a montré que des anticorps préparés contre des AF IgM pouvaient réagir contre d'autres AF IgM mais pas contre des IgM sans activité d'AF.

L'absorption de ces antisérums anti-idiotypes avec d'autres AF n'a aucun effet inhibiteur sur la réaction de précipitation de ces antisérums avec l'antigène qui a servi à l'immunisation, preuve que chaque AF possède une spécificité idiotypique individuelle.

VII.4.2.2. Interaction des agglutinines froides avec les globules rouges :

La plupart des sujets normaux ont dans leur sérum des agglutinines froides de titre faible, d'amplitude thermique faible, de nature IgM et de spécificité anti-I. ces AF « physiologiques » sont toujours de titre faible (1/64), ne réagissent avec les globules rouges qu'entre 0° et 4°C et vont avec le taux d'IgM du sérum. Ces anticorps sont certainement inactifs in vivo, contrairement aux AF anti-i, qui sont extrêmement rares chez les adultes normaux. On peut observer, dans certaines circonstances chez l'adulte, la réapparition de l'antigène i sur les

globules rouges. C'est le cas lorsque l'érythropoïèse est fortement sollicitée pour la production rapide de globules rouges, situation qui peut se produire dans de nombreuses circonstances : leucémies, anémies chroniques, anémies hémolytiques, dysérythropoïèses congénitales.

Dans la thalassémie majeure et dans d'autres affections où existe un «stress» médullaire, les globules rouges sont agglutinés par les AF anti-i beaucoup plus fortement que des globules rouges d'adulte normal. Le mécanisme de cette augmentation de l'antigène i n'est pas clair. Il n'est pas dû simplement à la production accrue de cellules jeunes, puisque les réticulocytes n'ont pas d'antigène i que les cellules mûres. Il est possible que le raccourcissement du temps de maturation intramédullaire, et peut-être l'inachèvement de la différenciation des précurseurs érythroïdes, soient responsables de ce phénomène.

Plusieurs formes d'anémies dysérythropoïétiques congénitales (ACD) ont été décrites, distinctes par les anomalies morphologiques des précurseurs érythroïdes médullaires, caractéristiques pour chacune d'entre elles. Les globules rouges de l'ADC de type 2 (HEMPAS : Hereditary Erythroblastic Multinuclearity with positive acidified Serum test) sont plus agglutinables par les AF anti-i que les globules rouges d'adultes ayant un «stress» médullaire ; leur agglutinabilité est pratiquement égale à celle des globules rouges du cordon. De plus, les globules rouges HEMPAS sont rapidement hémolysés par les sérums anti-i

La présence d'un titre faible d'AF n'élimine pas forcément leur responsabilité dans une anémie hémolytique. Des cas de maladies des AF à titre faible mais d'amplitude thermique large ont été rapportés. Parfois même,

certaines AF pathologiques n'agglutinent pas du tout les globules rouges intacts ; il faut alors les identifier par leur action sur les globules rouges modifiés par une protéase ou la neuraminidase.

La signification pathologique des AF dépend essentiellement de leur amplitude thermique. Les AF pathologiques peuvent agglutiner les globules rouges à des températures très supérieures à 4°C, jusqu'à 30-34°C. Dans ces cas l'activation du complément se fait facilement, entraînant une hémolyse parfois aiguë. Des cas de maladie chronique des agglutinines froides avec hémolyse liée à des AF de titre faible, mais à amplitude thermique large, ont été bien décrits. Ces cas doivent être distingués des AHAI « mixtes », qui possèdent à la fois des AF IgM réagissant à froid et des anticorps IgG réagissant à chaud. Ces AHAI mixtes ont été décrites au cours du LED, de lymphomes, de cancers et après la prise de α méthyl dopa. La raison de la dépendance thermique des AF est mal comprise. Il existe une preuve que la thermo-dépendance est liée à la membrane des globules rouges plutôt qu'à une propriété particulière des AF : les antigènes extraits de la membrane érythrocytaire sont capable de réagir avec les AF à 37°C, alors que les globules rouges intacts ne réagissent qu'à froid, ce qui indique que sur les globules rouges intacts les antigènes sont « dévoilés » par le froid.

L'agglutination et surtout l'hémolyse ne sont pas directement liées au titre de l'AF ou à la concentration des IgM du sérum. Il semble plutôt que l'amplitude thermique de l'agglutination soit liée à la densité des récepteurs à la surface de globules rouges.

Pratiquement toutes les AF fixent le complément. C'est la présence de complément, et essentiellement de C3d sur les globules rouges, qui explique la

positivité du test de Coombs direct dans la maladie des AF. On a montré que le complément est nécessaire à l'hémolyse due aux AF. Une molécule d'AF est requise pour fixer une molécule de complément sur un globule rouge d'adulte ou de cordon. Des globules rouges déjà recouverts de C3 et de C4 ont moins de sites disponibles pour la fixation des AF et sont, de ce fait, moins susceptibles d'être hémolysés. C'est probablement la raison pour laquelle, dans la maladie chronique des AF, les hématies autologues sont résistantes à l'hémolyse par les AF.

Les globules rouges sont hémolysés en priorité, car ils n'accumulent pas suffisamment de C3 à leur surface. Dans les infections aiguës, telles que les infections à mycoplasme, le délai est probablement insuffisant pour que les globules rouges aient fixé suffisamment de molécules de complément protecteur, ce qui explique ainsi le caractère aigu de l'épisode hémolytique.

Les hématies sensibilisées par le complément sont éliminées de la circulation grâce à leur fixation par les récepteurs C3b des macrophages hépatiques.

VII.4.2.3. Les diverses affections associées aux AF :

La synthèse d'AF peut être induite expérimentalement chez certains animaux. Des lapins auxquels sont injectés des *Listeria* tués, ou qui sont hyperimmunisés avec des globules rouges de chèvre, synthétisent des AF anti-I. les globules rouges de lapin ont de l'antigène I et sont capables d'absorber les AF anti-I. C'est pourquoi l'injection intraveineuse d'AF pures anti-I entraîne une hémolyse chez le lapin. Les souris NZB/B1 développent régulièrement des AF de type IgM κ et de spécificité anti-I. les titres les plus élevés d'AF sont observés chez les souris qui ont développé une tumeur lymphoïde maligne. La

similitude de ces constatations avec ce qu'on observe dans le lymphome humain peut être interprétée de plusieurs manières. L'une des possibilités est que la formation d'AF monoclonales chez l'homme ou la souris représente une réponse immune à un agent qui est responsable de la prolifération lymphoïde maligne ou qui est produit par elle. Un argument en faveur de cette interprétation est fourni par le fait qu'on peut transmettre la capacité de produire des AF en injectant à des souris CF1 des extraits spléniques acellulaires de souris NZB/B1 adultes.

Ainsi Des AF permanentes ont été trouvées dans plusieurs affections malignes, telles que le lymphome, la macroglobulinémie de Waldenström, la LLC et d'autres. Des AF de classe IgA ont été observées dans des « lymphomes à grandes cellules » et dans le myélome. Dans les lymphomes et la maladie de Waldenström, on observe souvent des AF anti-i ou anti-non Ii, tandis que dans la maladie chronique des agglutinines froides, on voit habituellement des AF anti-I.

VII.4.2.4. Agglutinines froides transitoires :

La synthèse d'AF transitoires a été observée dans de nombreuses maladies infectieuses. Dans la mononucléose infectieuse, des AF anti-i ont pu être trouvées jusque dans 32% des cas, et des AF anti-non Ii dans 37% des cas. Habituellement, ces AF sont de classe IgM, mais quelquefois des AF mixtes IgM/IgG ont été démontrées. Dans l'infection à cytomégalovirus, des AF anti-non Ii ont été détectées dans 39% des cas. Les AF anti-I sont communes dans l'infection à *Mycoplasma pneumoniae*. Des AF IgM anti-I ont été décrites dans la légionellose et dans d'autres infections. Les AF endémiques découvertes chez les Mélanésien peuvent être de même la conséquence d'infections.

VII.4.2.5. Cas particulier des AHAI à autoanticorps froids : la maladie des agglutinines froide (MAF) [19]

La MAF est un syndrome lymphoprolifératif clonal, c'est une pathologie de la deuxième moitié de la vie, dont la présentation clinique est marquée par la grande fréquence des symptômes liés au froid (syndrome de Reynaud, acrocyanose) et de l'exacerbation de l'hémolyse lors de maladies fébriles intercurrentes, dans une série de 86 cas publié par Berentsen S, et ses collaborateurs en 2006 dans son article dont le numéro est : 91 : 460-6. Il est retrouvé une infiltration médullaire par un lymphome dans 76% des cas (un lymphome lymphoplasmocytaire dans 50%) et une immunoglobuline monoclonale de type IgM (90% des cas) avec une chaîne légère kappa (94%). Sur un suivi de 10 ans, la transformation en un lymphome plus agressif est observée dans 3,5% des cas.

VII.4.3. Les anémies hémolytiques auto-immunes à auto-anticorps incomplets :


Leur présence est constatée au cours de diverses anémies hémolytiques qui sont toutes caractérisées par la positivité de la réaction de Coombs directe et l'absence dans le sérum d'agglutinines froides de titre élevé (inférieur à 1/32).

Ces anémies de loin les plus fréquentes des anémies auto-immunes, sont parfois d'*évolution chronique*, se poursuivant pendant des années. Elles peuvent accompagner une lympho- réticulopathie maligne (leucémie lymphoïde chronique, maladie de hodgkin, sarcomes ganglionnaires), parfois une maladie du « collagène » (surtout lupus érythémateux diffus) ou un kyste de l'ovaire, mais plus souvent elles apparaissent idiopathiques.

Il peut s'agir d'une anémie hémolytique aiguë survenant au cours d'une infection respiratoire, d'une maladie virale caractérisée (mononucléose infectieuse ...) ou sans raison apparente (syndrome de Lederer-Brill).

VII.4.4. Hémolysine biphasique de Donath-Landsteiner : [20]

Beaucoup plus rare que les précédents, cet anticorps caractérise l'hémoglobinurie paroxystique à frigore, ou maladie de Harley, dont l'origine syphilitique a été le plus souvent reconnue. Dans ces cas, d'évolution toujours très prolongée, surviennent des épisodes brutaux d'hémoglobinurie déclenchés par l'exposition au froid. Ceux-ci ne s'accompagnent pas de phénomènes ischémiques des extrémités de type Raynaud. Dans l'intervalle des crises hémoglobinuriques l'hyper hémolyse cesse totalement. Ces deux caractères fondamentaux opposent sur le plan clinique cette maladie exceptionnelle qu'est l'hémoglobinurie paroxystique à frigore à l'anémie hémolytique chronique dite à agglutinines froides, précédemment décrite. Sur le plan immunologique, la différence est tout aussi nette puisque, au lieu des agglutinines froides de titre élevé (avec possibilité de réaction de Coombs directe des hématies par fixation du complément), il est constaté dans l'hémoglobinurie paroxystique à frigore la présence d'un anticorps hémolytique très particulier, l'hémolysine biphasique décrite Donath et Landsteiner.



*VIII. Traitement des anémies
hémolytiques auto-immunes*

Le traitement des AHAI repose encore sur des bases empiriques, non seulement dans les formes idiopathiques mais aussi dans la plupart des formes secondaires où l'AHAI semble évoluer de façon autonome indépendante de celle de la maladie associée.

L'objectif du traitement reste largement symptomatique dans la mesure où il vise à réduire l'hémolyse par action sur les effecteurs de la destruction globulaire (corticoïdes, danazol, splénectomie). Mais on cherche aussi à agir sur la production d'anticorps, à les inhiber ou à les détourner de leurs cibles antigéniques (corticoïdes cytotoxiques, cyclosporine A, Immunoglobuline (Ig) par voie intraveineuse à hautes doses, échanges plasmatiques, sérum anti-lymphocytaire, absorption sur colonne d'affinité).

Le choix du traitement dépend de quelques critères simples : les uns sont simples (âge et état général des malades, sévérité de l'hémolyse, son caractère aigu ou chronique, sa nature idiopathique ou secondaire), les autres sont immunologiques, la classe de l'autoanticorps et son activité thermique sont actuellement les critères essentiels.

➔ **Formes aiguës :**

Les formes aiguës secondaires à une infection guérissent spontanément en quelques jours au plus tard en 2 à 3 semaines. Le meilleur traitement des formes aiguës post-virales accompagnées d'agglutinines « froides » est le repos au lit chaud, puisque la crise est transitoire et sans lendemain. Le titre d'agglutinines « froides » retourne à des taux normaux inoffensifs en 2 à 3 semaines.

L'évolution de l'HPF dans sa forme aiguë peut prendre un aspect dramatique, mais l'anémie s'amende spontanément en quelques jours, au plus

tard en quelques semaines pour ne plus rechuter, si bien que l'abstention thérapeutique et le repos au lit sont encore la meilleure solution, en cas d'anémie suraiguë menaçant la vie, on peut recourir à la corticothérapie à titre systémique sans certitude sur son efficacité, et surtout la transfusion. En raison de la spécificité de l'autoanticorps, il faudrait utiliser spécifiquement du sang P négatif, mais la rareté de ce phénotype conduit à transfuser du sang du phénotype P commun. A condition d'utiliser des globules rouges lavés, à réchauffer le sang à 37°C et de maintenir le malade au chaud, la transfusion peut être efficace. Le principe est de transfuser de petits volumes justes suffisants pour maintenir un hémocrite tolérable.

Généralement l'hémolyse se résout en quelques jours à quelques semaines. L'épisode aigu une fois surmonté, le pronostic à long terme est excellent. L'hémolyse biphasique disparaît du sérum en 2 ou 3 mois mais il peut persister plus longtemps.

VIII.1. Traitement des anémies hémolytiques auto-immunes chroniques idiopathiques à auto-anticorps « chauds » [21] + [22]

Ces formes constituent des modèles standard des essais thérapeutiques des AHAI, puisqu'elles fournissent la possibilité de juger l'efficacité des diverses modalités thérapeutique sans interférence avec une maladie associée

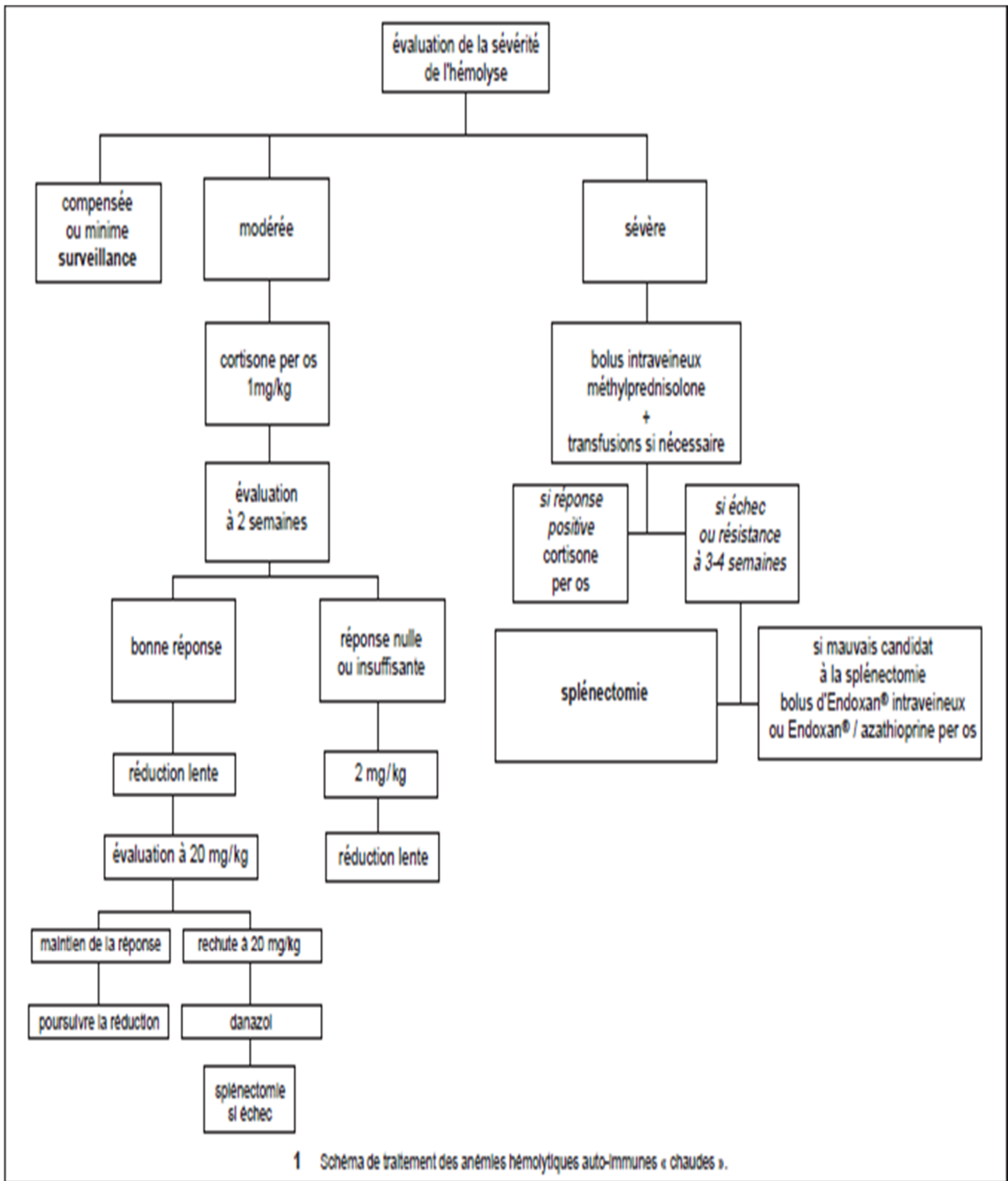


Figure :5 : traitement des anémies hémolytiques chaudes

VIII.1.1. Transfusions :

La règle générale est d'éviter, dans la mesure du possible, de recourir aux transfusions de sang, à moins que la situation clinique soit à tel point critique que sa survie exige de gagner du temps, afin que le traitement médicamenteux puisse commencer à faire son effet. Si l'anémie, même sévère, est relativement bien tolérée, il faut mettre le patient au repos, le surveiller et attendre l'effet bénéfique du traitement à instituer de toute façon. L'indication d'une transfusion, en effet, ne repose pas seulement sur le taux d'hémoglobine, mais d'abord et avant sur la tolérance clinique.

En principe, on demande au centre de transfusion d'essayer de trouver du sang le moins incompatible possible. La contribution du centre de transfusion à l'identification de la spécificité exacte de l'auto-anticorps sera d'autant plus efficace qu'une bonne information concernant le passé transfusionnel du patient, ainsi que sa tolérance à l'anémie, lui seront communiquées. Dans certains cas rares l'auto-anticorps a une spécificité restreinte ressemblant à un anti-D, anti-C ou à un anti-E. la transfusion de globules rouges cde/cde sera dans ces cas efficace, avec une survie normale des globules rouges transfusés. Quand l'autoanticorps a une spécificité anti-e, c'est à du sang de groupe cDE/cDE que l'on aura recours pour la transfusion.

En pratique la connaissance précise de la spécificité de l'autoanticorps s'est révélée moins payante qu'on le pensait de manière théorique, car ces auto-anticorps de spécificité restreinte sont rares et presque toujours accompagnés d'autres auto-anticorps de spécificité large. De plus, la transfusion du sang non isogroupe dans le système Rh, entraîne le risque d'allo-immunisation contre les

antigènes que le malade ne possède pas, compliquant encore plus la réceptivité transfusionnelle ultérieure du patient.

Le problème du laboratoire est de ne pas méconnaître la présence simultanée chez le patient d'allo et d'auto-anticorps, ce qui est loin d'être exceptionnel, surtout si l'on retrouve des antécédents de transfusion antérieure ou une grossesse.

VIII.1.2. La corticothérapie :

Représente le traitement de première ligne. Il représente encore la base du traitement des AHAI. Les divers types de corticostéroïdes ont été utilisés, mais la forme pharmaceutique le plus communément prescrite est la prédnisone. Le traitement doit être utilisé dès le diagnostic établi, à la dose de 1mg/kg per os divisée en trois prises par jour, la réponse est jugée dans les 15 premiers jours, au bout de 8 jours, on observe, en cas de réponse une augmentation paradoxale de réticulocytes. La réponse se poursuit ensuite par une élévation de l'hémoglobine de façon lente et progressive d'environ 2g/dL, par semaine, en même temps que s'améliorent les signes d'anémie. Les patients disent qu'ils se sentent bien et qu'ils sont moins essoufflés, en même temps que le taux d'hémoglobine remonte, on voit diminuer les signes biologiques de l'hémolyse (LDH, bilirubine) et l'haptoglobine remonter. Quand le taux d'hémoglobine avoisine 11 à 12g/dl, les réticulocytes diminuent. Si au bout de 2 semaines de traitement aucune réponse n'est obtenue, il faut doubler la dose à 2mg/kg. On peut prononcer l'échec du traitement si aucune réponse n'est observée au bout de 3 semaines. La prolongation de la corticothérapie selon la même modalité est généralement inefficace. Beaucoup préconisent à présent de recourir à de fortes

doses de méthylprédnisolone par voie intraveineuse à raison de 500mg en bolus, ou 40mg/j de dexaméthasone en 4jours.

On s'est aperçu depuis longtemps que l'arrêt abrupt des corticoïdes était suivi d'une rechute de l'hémolyse. De sorte que la stratégie thérapeutique qui s'est imposée depuis lors est la poursuite du traitement à la dose initiale efficace jusqu'à ce que l'hémoglobine dépasse 11g/dL. On commence ensuite à baisser la dose de prednisone de la manière lente et graduée. Par paliers de 5mg par semaine (si l'on a commencé par 1mg/kg). Quand la posologie a atteint 30mg/j (au bout de 3 à 6 semaines environ) la réduction se doit d'être très prudente assortie d'un contrôle hebdomadaire de l'hémogramme et des réticulocytes. Cette deuxième période de dégression doit s'étaler sur une période de 3mois. Lorsque la dose de 10mg/jour est atteinte sans rechute, la dégression doit de nouveau s'étaler sur 3mois avant l'arrêt du traitement. Cette stratégie permet d'obtenir une stratégie dans 20% à 30% des cas. Dans 40% à 50% des cas. On voit se dessiner une rechute lorsque la dose de prednisone passe au dessous d'une barre qui peut se situer entre 5 et 30mg/jour. La rémission pourrait alors être maintenue à condition de poursuivre pendant des mois la corticothérapie à la dose efficace la plus faible. Quand la dose efficace est inférieure ou égale à 20mg/jour, les effets secondaires de la corticothérapie sont jugés acceptables, il faut toujours adjoindre à la corticothérapie au long cours un traitement destiné à en pallier les inconvénients (sels de potassium, antiulcéreux, et pour certains une prévention de la pneumocystose par de la Bactrim©), un régime sans sels si les doses sont excessives, ainsi que de l'acide folique de manière systémique pour ne pas gêner l'hyperérythropièse. A dose supérieures les effets secondaires (ulcère gastrique, diabète, hypertension artérielle, hypokaliémie, prise de poids,

syndrome cushingoïde, ostéoporose, myopathie cortisonique et susceptibilité à l'infection) deviennent inacceptables, on a préconisé d'utiliser un traitement alterné 1 jour sur 2, peu efficace dans l'expérience de certains auteurs.

Chez l'enfant la posologie initiale préconisée est d'emblée de 2mg/kg. Le danger est l'arrêt de la croissance si le traitement doit être prolongé.

Il paraît nécessaire de recourir à une autre modalité thérapeutique en cas d'échec avéré de la corticothérapie mais aussi si les doses efficaces de maintien sont très élevées, en pratique au-dessous de 20mg/jour ou si les effets indésirables apparaissent excessifs. En résumé 20 à 30% sont en rémission et le reste après l'interruption du traitement ; 40 à 50% des patients ont besoin d'une corticothérapie continue à minima pour ne pas rechuter ; 15 à 20% sont réfractaires au traitement ou nécessitent des doses de corticoïdes très élevées.

VIII.1.3. Danazol :

Dans les formes chroniques idiopathiques « chaudes » certains préconisent utiliser le Danazol comme traitement d'épargne cortisonique, d'autres comme recours en cas d'échec des autres traitements. Le Danazol est un antrogonène dérivé synthétique isoxazole de l'éthistérone, antigonadotrope dénué d'effets oestrogéniques et progestatifs. Son efficacité inattendue dans le Purpura thrombopénique auto-immune (PTAI) a incité certains à l'utiliser dans d'autres pathologies auto-immunes : LED, érythroblastopénie dans les AHAI. Des succès sont rapportés dans la littérature. Dans une série personnelle de 17 patients, l'association corticoïdes Danazol a permis d'obtenir des résultats satisfaisants et durables chez des sujets qui avaient nécessité de fortes doses de corticoïdes en traitement d'entretien mais aussi chez des patients en rechute et chez des

patients résistants à la corticothérapie. Les effets secondaires minimes ont font un médicament intéressant dans les traitements prolongés de l’AHAI.

VIII.1.4. Splénectomie :

La splénectomie est le traitement de deuxième ligne, ses indications sont à peser avec soin à cause des graves complications infectieuses qu’elle peut provoquer. Il faut l’envisager chez les patients ayant une AHAI à anticorps « chauds » idiopathique résistant à la corticothérapie ou nécessitant un traitement d’entretien à doses trop élevées, en pratique supérieur à 20mg/jour.

Personnellement nous n’avons recours à la splénectomie qu’en cas d’échec du traitement associant corticoïdes plus Danazol ou, si après une réponse initiale satisfaisante se produisent des rechutes à répétition nécessitant à chaque fois une reprise de la corticothérapie à dose élevée. On a pensé que l’indication de la splénectomie pouvait être renforcée par l’étude isotopique du site de séquestration prédominant des globules rouges, lorsque le rapport radioactivité splénique/ radioactivité hépatique est élevé, supérieur à 2, l’effet favorable de la splénectomie est attendu dans 92% des cas, contre 48% seulement quand ce rapport est inférieur à 2, mais ce critère est loin d’être absolu. En fait les meilleurs critères prédictifs de l’efficacité sont cliniques, la réponse est meilleure en cas de splénectomie palpable, quand les autoanticorps sont incomplets de nature IgG, quand leur quantité est faible. La splénectomie est inefficace donc non indiquée en cas d’agglutinines « froides », son efficacité n’est pas garantie en présence d’anticorps fixant le complément. Globalement l’effet bénéfique sur l’hémolyse qui était sur les premières séries d’environ 50% dans les formes idiopathiques s’élève actuellement à 62 à 67% des cas. Ces progrès sont dus en partie à la meilleure maîtrise des complications

postopératoires et les meilleurs critères de choix. La prévention des accidents tromboemboliques souvent liés à l'hyperplaquettose postopératoire, la prévention par la vaccination contre le pneumocoque et l'*Hemophilus influenzae* type b et l'abstention chez le jeune enfant sont autant de précautions qui ont fait diminuer la mortalité postopératoire, il est recommandé de munir les patients splénectomisés d'une carte mentionnant leur problème clinique et leurs numéros de téléphone à contacter. Le succès d'une splénectomie se juge assez rapidement mais beaucoup moins vite que dans le PTAI, l'hémoglobine ne revient à la normale qu'après plusieurs semaines, la normalisation des signes d'hémolyse également. Le test de Coombs peut se négativer, mais il n'est pas rare de voir persister un test de Coombs positif pendant des mois et des années chez des patients en rémission cliniques et hématologiques. Même quand une rémission est obtenue, elle n'est pas toujours définitive, des rechutes peuvent se reproduire, 4 mois jusqu'à 8 ans, après la splénectomie. La splénectomie peut n'être suivie que par une rémission incomplète avec persistance d'une hémolyse résiduelle. Il faut vérifier dans ces cas l'absence de rate accessoire. Mais habituellement l'échec est lié à la persistance d'une hémolyse dans le reste du système macrophagique, notamment hépatique. Il est intéressant de noter aussi qu'en cas de rechute ou de rémission incomplète, la reprise d'une corticothérapie à faible dose peut être efficace.

VIII.1.5. Immunosuppresseurs:

Les agents cytotoxiques immunosuppresseurs constituent le troisième recours en cas d'échec des corticoïdes et de la splénectomie ou en cas de rechute après une amélioration passagère. Mais on peut discuter leur indication en deuxième ligne pour les mauvais candidats à la splénectomie que sont les sujets

très âgés, les malades ayant des antécédents thromboemboliques, ceux ayant une intervention abdominale antérieure avec adhérences faisant redouter une extirpation périlleuse de la rate. Ceux qui ont une insuffisance organique préoccupante rénale ou hépatique.

La splénectomie étant inefficace dans les AHAI « froides », les agents cytotoxiques immunosuppresseurs sont, dans ces cas, le deuxième recours thérapeutique.

On hésite toujours à prescrire des agents cytotoxiques immunosuppresseurs dans une affection non maligne comme l'AHAI idiopathique ou associée à une autre affection non maligne, en raison des risques majeurs qui sont toujours à prendre en considération : myélotoxicité dans une maladie où l'on cherche à obtenir une efficacité maximale de l'érythropoïèse, sensibilité accrue aux infections, cystite hémorragique du cyclophosphamide, stérilité, alopecie et par-dessus tout risque de leucémie aiguë secondaire ou de tumeur maligne. Les risques chez l'enfant rendent l'indication des agents cytotoxiques immunosuppresseurs exceptionnelle, mais il constitue parfois le seul recours.

Même si la décision du traitement immunosuppresseur n'est pas facile à prendre, elle ne doit être indéfiniment retardée, par plus 4 à 6 mois si la posologie de la corticothérapie doit dépasser 15mg/j ou plus rapidement après échec de la splénectomie. L'hésitation est moins grande dans les AHAI associées à une hémopathie maligne ou à une maladie auto-immune systémique résistante, dont le traitement immunosuppresseur peut constituer une indication.

Les médicaments utilisés sont le cyclophosphamide ou l'azathioprine. Il n'existe pas d'études rétrospectives randomisées permettant de choisir l'un ou l'autre. L'expérience montre qu'ils sont tous deux efficaces, mais la tendance est

plutôt d'utiliser l'azathioprine dans les AHAI « chaudes » et le cyclophosphamide dans les AHAI « froides » mais aucune base théorique ne le justifie. Le schéma thérapeutique habituellement proposé comporte 2mg/kg/j d'azathioprine ou 1,5mg/kg/j de cyclophosphamide pendant 4 à 6 semaines en poursuivant en même temps la prednisone à 1mg/kg/j, qu'on réduit progressivement sur 3 mois, en conservant la même dose d'immunosuppresseurs (IS). On peut être amené à réduire la dose d'IS si apparaît une granulopénie inférieure à 2000/mL ou une thrombopénie inférieure à 50 000/mL. Si la rémission obtenue avec ce schéma se maintient à l'arrêt de la corticothérapie, on continue encore un mois avec la même dose d'IS, qu'on réduit ensuite de manière progressive par paliers de 4 semaines, on arrive ainsi au bout de 10 mois environ, à une posologie de 15mg/m² d'azathioprine ou de cyclophosphamide. Après un mois de ce régime on peut essayer de passer à un régime intermittent avec les mêmes doses deux fois par semaine. En cas d'échec de l'un des drogues, on peut lui substituer de l'autre ou augmenter de 25 mg toutes les 2 semaines jusqu'à la dose limite tolérable. Si une rechute se reproduit pendant la phase de dégression, il faut remonter la posologie à pleine dose initiale pendant une période de 6 mois.

L'efficacité d'une telle approche thérapeutique semble indéniable. Les résultats cumulés de différentes séries publiées montrent un effet bénéfique du traitement IS dans 40 à 50% des cas. Certains utilisent préférentiellement, dans les cas d'hémolyse sévère et résistante, le cyclophosphamide en bolus intraveineux toutes les 2 à 4 semaines à la dose de 600 à 750 mg/m² pendant 6 à 12 mois en prévenant sa toxicité vésicale par le mesna.

VIII.1.6. Immunomodulateurs :

✦ Immunoglobulines intraveineuses :

L'efficacité remarquable des Ig par voie intraveineuse dans le traitement de la PTAI qui obtient environ 80% de réponses a pu laisser penser qu'elles pouvaient avoir la même efficacité dans les AHAI. Les résultats de petits essais non contrôlés ont cependant été assez décevants, même si des succès ont été rapportés initialement. En combinant les résultats de trois études pilotes et de la revue de la littérature, une étude plus récente constitue une sorte de méta-analyse et portant sur 73 cas montre que les immunoglobulines intraveineux ont une efficacité limitée dans le traitement des AHAI. Mais la réponse n'est généralement pas nulle puisque dans 40% des cas, on observe une remontée de taux d'hémoglobine de plus de 2g/dl et la présence d'une hépatomégalie. A l'inverse, la présence d'une splénomégalie augure d'une mauvaise réponse dans 10 cas sur 12. Les doses utilisées ont généralement été relativement modestes. De l'ordre de 0,4 à 0,5 mg/kg/j pendant 5 jours. Un cinquième des patients ont cependant reçu 1mg/kg/j pendant 5 à 7 jours. Mais aucune corrélation n'a été observée entre la dose totale d'Ig par voie intraveineuse et le taux de réponses. Aucune corrélation n'a été observée non plus avec le type de test de Coombs avec ou sans la présence de complément. Les patients splénectomisés n'ont pas répondu mieux que les autres. La population étudiée ne comportait que 11 enfants sur 73 patients, ce qui ne permet pas d'étendre les conclusions négatives de ce travail à la pratique pédiatrique. Une revue de la littérature (1981-1997) sur l'utilisation des Ig par voie intraveineuse en hématologie autorise les remarques suivantes :

✦ **aucune étude randomisée n'a été réalisé à ce jour ;**

- les dix petites séries comportant au moins deux patients rassemblent 71 patients ;
- les Ig par voie intraveineuse sont administrés en deuxième ou en troisième ligne de traitement après échec des autres modalités thérapeutiques.
- une réponse est observée dans environs 40 % des cas.
- la dose recommandée par la société australienne de transfusion sanguine 0,8 g/kg/j pendant 3 jours.
- l'indication des Ig par voie intraveineuse pour le panel d'experts américains est réservée au AHAI « chaudes » qui résistent à la corticothérapie

Autres traitements immunomodulateurs :

Les échanges plasmatiques ont été utilisés dans certains cas d'AHAI « chaudes » surtout dans les cas résistant aux traitements usuels avec des succès anecdotiques chez l'enfant, mais aussi chez l'adulte.

La cyclosporine n'est théoriquement pas indiquée dans la cytopénie auto-immune, son indication principale se situant dans la transplantation et dans un certain nombre de maladies auto-immune. Des patients résistants à toute autre thérapie ont cependant de manière surprenante répondu à la cyclosporine ; la posologie est de 5mg/kg/j en deux prises posologies réduites après 6 jours de traitement à 3mg/kg/j de façon à maintenir un taux sérique de 200 à 400 ng/ml.

La technique d'immunoabsorption des IgG par la protéine A staphylococcique utilisée comme immunoabsorbant a pu être utilisée avec succès dans certains cas.

VIII.1.7. les anticorps monoclonaux : [22]

L'utilisation des anticorps monoclonaux s'est beaucoup développée depuis 1998, date de la première utilisation du rituximab. Si une centaine de publications sont répertoriées actuellement, seuls 5 essais cliniques ouverts ont été rapportés. L'utilisation du rituximab paraît intéressante dans les MAF, où un taux de réponse d'environ 50% est observé, mais si la tolérance est généralement bonne, l'efficacité est partielle et transitoire. Quelques succès sont signalés dans les AHAI à auto anticorps chauds, surtout chez l'enfant, et dans les syndromes d'Evans, là aussi le plus souvent transitoires. L'utilisation de l'alentuzumab reste pour l'instant très restreinte dans cette indication.

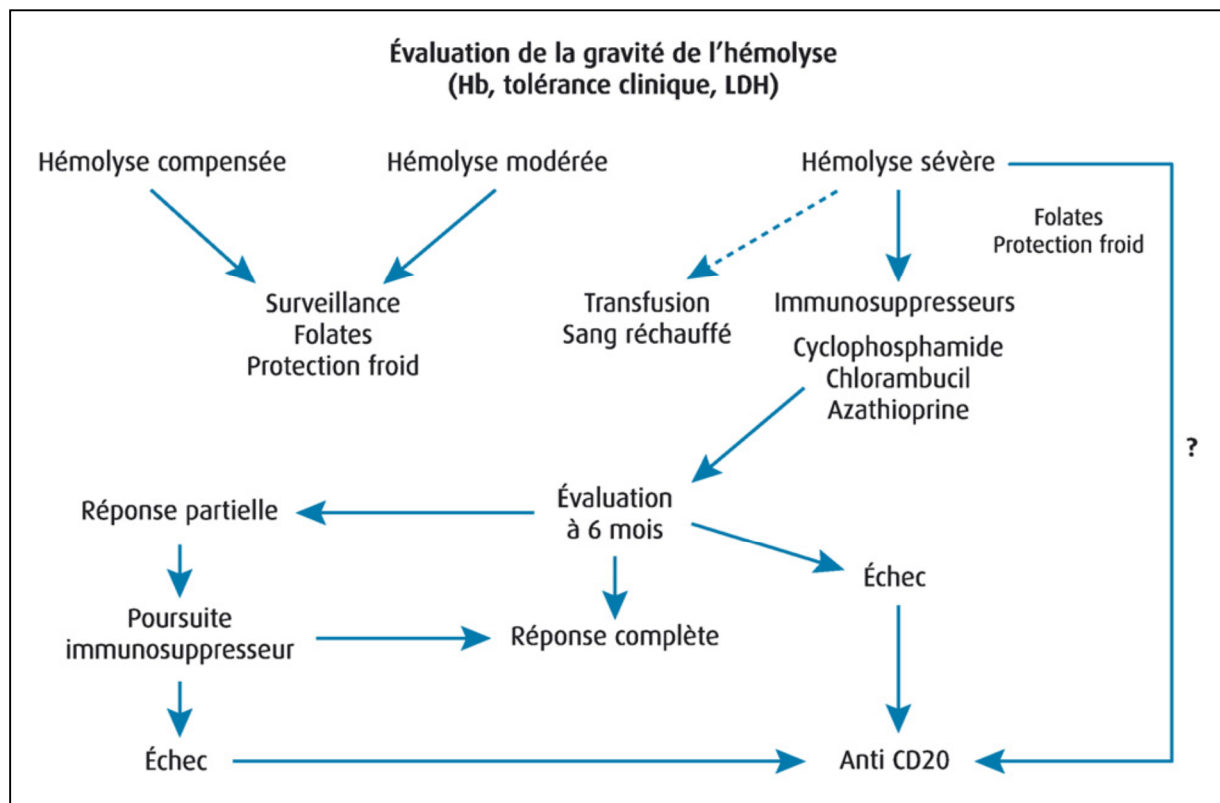


Figure 5 : Prise en charge de la maladie des agglutinines froides (MAF)

VIII.1.8. La thymectomie :

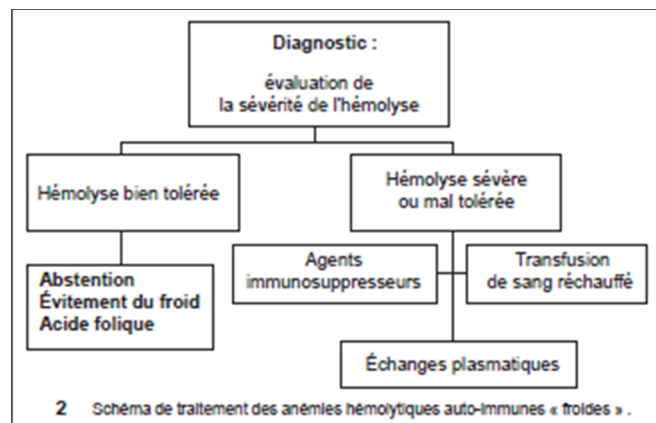
Autre fois préconisée n'est pas pratiquée aujourd'hui, hormis dans les cas associés à une myasthénie.

L'injection de plaquettes recouvertes de vincristine ou de vinblastine, destinée à délivrer la dose cytotoxique directement dans les macrophages, a pu obtenir des succès chez des malades en échec de la splénectomie, mais cette technique n'est que rarement pratiquée.

VIII.1.9. Héparine :

Elle a été créditée autre fois de quelques succès, mais le risque hémorragique et son effet inconstant font que l'on utilise plus.

VIII.2. Traitement de la maladie des agglutinines « froides » [23].



VIII.2.1. Traitement symptomatique :

Le traitement de la maladie des agglutinines froides est totalement différent de celui des AHAI « chaudes ». Dans la mesure où il s'agit essentiellement d'une maladie des sujets âgés extrêmement lente

Et généralement peu sévère. Il est important de mesurer les bénéfices attendus et les inconvénients d'un traitement obligatoirement au long cours.

La mesure la plus simple, et sur laquelle il faut insister auprès du patient, est l'évitement du froid, ne pas sortir en hiver, maintenir une température ambiante, se vêtir chaudement, porter des gants et se couvrir les oreilles sont des conseils simples et faciles à suivre, ceux qui le peuvent se trouvent mieux de passer l'hiver dans une contrée plus clémente, certains ont même conçu un vêtement spécial évitant au patient d'avoir à subir les intempéries thermiques extérieures.

La prescription de folates au long cours permet d'éviter la survenue d'une éventuelle érythroblastopénie secondaire à la consommation excessive de l'acide folique engendrée par l'hyperérythropoïèse compensatrice de l'hémolyse chronique.

VIII.2.2. Transfusion :

L'anémie des MCAF est rarement assez grave pour justifier la transfusion de sang. Dans les cas rares où l'anémie est sévère ou mal tolérée, se pose la question difficile d'avoir à transfuser du sang incompatible. Du fait de la spécificité anti-I des agglutinines « froides », il est pratiquement impossible de transfuser du sang I-, qui est excessivement rare en dehors du sang placentaire. Il est donc nécessaire de transfuser du sang I+ incompatible. Une première difficulté apparaît dès le groupage sanguin puisque les hématies du patient s'autoagglutinent spontanément à cause des autoagglutinines « froides ». Ce problème peut être résolu par le lavage des hématies à 37°C et la détermination des isohémagglutinines naturelles des patients en testant son sérum contre les globules rouges tests A,B ou O à 37°C, température à laquelle l'agglutinine « froide » n'est plus active. La recherche d'agglutinines irrégulières doit être

strictement à 37°C, en évitant les techniques employant l'albumine ou les enzymes qui peuvent donner de faux résultats positifs.

L'autoabsorption du sérum sur les propres globules rouges des patients à 4°C épuise les agglutinines « froides » et permet de mettre en évidence l'existence éventuelle d'alloanticorps actifs à 37°C, on peut transfuser de manière prudente du sang de l'adulte I+. la transfusion doit se faire lentement, théoriquement avec un appareil réchauffeur du sang. Il n'a cependant pas été démontré de manière formelle que le sang réchauffé donnait de meilleurs résultats que le sang transfusé à la température ambiante, mais il persiste encore un désaccord à ce sujet. De toute façon il faut garder de transfuser le malade dans une pièce chauffée, si le malade doit être opéré en hypothermie pour un problème cardiaque, différentes techniques ont été préconisées pour éviter l'agglutination des hématies dans les coronaires. On peut avoir recours si l'en existe la possibilité à du sang i, provenant de rares donneurs I- et conservés dans les centres de référence.

VIII.2.3. Echanges plasmatiques :

Ils ont été réalisés chez un certain nombre de patients souffrant de MCAF, avec des succès immédiats indéniables mais transitoires. Le degré de l'hémolyse diminue au même temps que le titre de l'agglutinine « froide » qui revient malheureusement trop vite à son taux initial. Parfois l'hémolyse reste inchangée malgré la baisse du titre de l'agglutinine « froide », de toute façon, les échanges plasmatiques doivent être réalisés en circuit extracorporel réchauffé

VIII.2.4. Traitement supprimeur :

Le traitement rationnel de la MCAF devrait viser la suppression de la production des autoanticorps pathologiques. La corticothérapie n'est pas efficace mais il ya des exceptions. A condition de les prescrire au long cours.

Les agents immunosuppresseurs sont susceptibles de diminuer le titre des agglutinines « froides » dans 25 à 50% des cas. On utilise le cyclophosphamide ou le chlorambucil. Le cyclophosphamide en bolus par voie intraveineuse serait plus efficace que la forme orale continue. Certains préconisent des cures de 4 jours de cyclophosphamides à la dose de 250mg/j+ prédnisone 100mg/j. cures répétées toutes les 2 à trois semaines, ou encore des bolus intraveineux de 1g de cyclophosphamide + 500 mg de méthylprednisone toutes les 2 ou 3 semaines.

La réponse est jugée sur la baisse des agglutinines « froides ». les effets secondaires sont relativement fréquents, notamment à cause du retentissement des agents alkylants sur l'hématopoïèse allant à l'encontre du but recherché, la pancytopenie peut être recherchée et obliger à l'arrêt du traitement. On manque en fait d'essais prospectifs pour bien cibler préciser les indications des immunosuppresseurs dans la MCAF.

◆ **Danazol :**

Curieusement, des cas de MCAF ont répondu favorablement au Danazol.

◆ **Interféron alpha (IFN α) :**

On a suggéré d'utiliser l'IFN α pour son effet immunomodulateur. Les quelques résultats rapportés dans la MCAF sont mitigés.

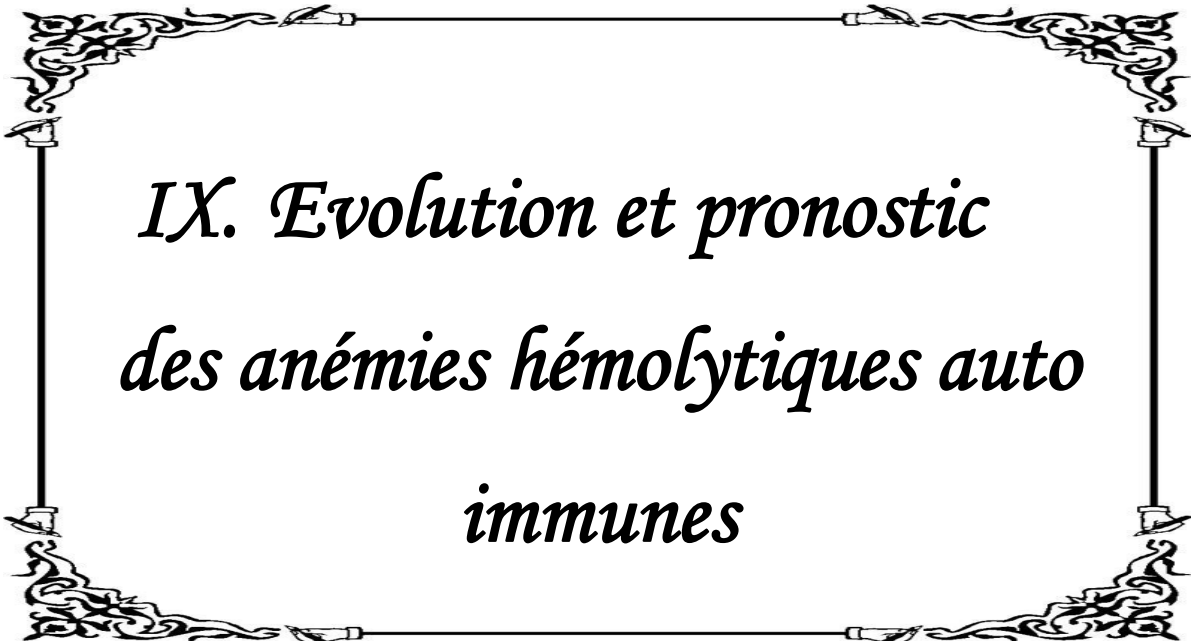
◆ **Splénectomie :**

Pas plus la corticothérapie, la splénectomie n'a de chance d'être efficace dans les MCAF. Cependant, plusieurs malades ont tiré un bénéfice certain et durable de la splénectomie. Tous ces malades avaient en commun une sérologie inhabituelle pour une MCFA, à savoir que leur autoanticorps sériques possédait un pouvoir hémolysant à 37°C sur les globules rouges traités par les enzymes protéolytiques, alors que l'agglutinine « froide » n'était plus active à 30°C. la signification de la présence de ces hémolysines est difficile à comprendre, car

elles sont habituellement décrites dans les AHAI « chaudes ». Une étude plus approfondie utilisant un test Elisa modifié semble démontrer que ces hémolysines sont des IgM distinctes des agglutinines « froides » qu'elles accompagnent.

VIII.3. Cas particuliers des IgM « chaudes » : [24]

La sévérité des AHAI dues à des IgM « chaudes » et le mauvais pronostic qui s'y rattache incitant à traiter ces patients de manière agressive. Des trois cas rapportés récemment, deux ont eu une issue fatale malgré les transfusions et les bolus de Solu-médrol, le troisième s'est amélioré sous transfusion, corticothérapie à forte dose, Ig par voie intraveineuse à échanges plasmatiques. Certains ont rapporté des cas où les corticoïdes à eux seuls ont entraîné une réponse satisfaisante. La spécificité anti-Pr augmente peut être encore la nocivité de ces IgM de titre faible et à large amplitude thermique.



*IX. Evolution et pronostic
des anémies hémolytiques auto
immunes*

- Les formes aiguës guérissent spontanément sans séquelles. On peut tabler sur cette évolution favorable dans les AHAI survenant après une infection, notamment chez l'enfant.

- On peut compter aussi sur la guérison dans les AHAI secondaires à une affection elle-même curable (arrêt du médicament en cause, ablation de la tumeur responsable, guérison de la maladie associée telle qu'une anémie de Biermer, une thyroïdite, une rectocolite hémorragique,...) dans l'AHAI de la grossesse, l'hémolyse disparaît après l'accouchement. Même dans les hémopathies malignes, où le pronostic de l'AHAI est plus sévère, un certain nombre de cas évoluent vers la disparition après une ou plusieurs lignes de traitement. La guérison de l'hémopathie maligne par un traitement d'intensification, comportant ou non une greffe de cellules souches hématopoïétiques, tarit aussi la source de l'AHAI.

- Même dans les AHAI « chaudes » idiopathiques, l'AHAI idiopathique peut disparaître complètement au bout d'un temps variable, parfois après plusieurs années d'évolution, la guérison ne peut véritablement être prononcée que si tous les signes biologiques d'hémolyse ont disparu, que le test de Coombs est devenu négatif, et qu'aucune rechute ne survient pendant une période de surveillance qui devrait se prolonger pendant plusieurs années

- La splénectomie qui permet d'obtenir la guérison de nombre de cas d'AHAI ayant résisté à la corticothérapie ou devenus corticodépendants n'est pas cependant pas là panacée. Les séries publiées font état d'une guérison qui varie selon les séries de 27% à 62% des cas. Mais ce pronostic favorable, tel qu'il existe aujourd'hui, est loin d'être une règle générale. Il s'est certes

amélioré par rapport au pronostic des années 1960. Les séries anciennes faisaient état d'un taux de mortalité supérieur à celui des séries plus récentes.

- Si l'on exclut l'évolution défavorable liée aux formes secondaires, la mortalité ne dépasse pas actuellement 5%, 10%, 20%. Les causes du décès sont dues soit à des complications liées au traitement, notamment à l'infection (20%). D'autres complications peuvent abrégier l'évolution : insuffisance rénale aiguë, embolie pulmonaire, infarctus du myocarde, thrombose portale.

- Pour Dacie, il semble improbable d'obtenir une guérison définitive dans une maladie où il existe une anomalie immunologique basale responsable de la production d'auto-anticorps. Une fois le traitement (symptomatique) arrêté, l'anomalie basale persiste, comme le prouve la persistance fréquente d'un test de Coombs positif même quand l'hémolyse est contrôlée. Tous les auteurs s'accordent pour recommander une surveillance prolongée pour des années.

- La majorité des cas d'AHAI « chaudes » chroniques évoluent sur des années. Les manifestations cliniques de l'hémolyse peut être fluctuantes, s'améliorer sous traitement et réapparaître à l'occasion d'un événement intercurrent ou d'un relâchement du traitement. Le test de Coombs peut être positif pendant des années soit au même temps qu'une hémolyse bien compensée sans anémie, soit même sans aucun signe biologique d'hémolyse, l'haptoglobine, les LDH et les réticulocytes restant constamment dans les limites de la normale.

- Les rechutes peuvent se produire plusieurs années après une rémission apparemment durable.

- Déterminer le pronostic d'une AHAI « chaude » idiopathique est donc extrêmement hasardeux au début de la maladie. Certes le type d'autoanticorps

responsables, l'activation ou non du complément, le caractère isolé ou mixte de l'AHAI, peuvent donner une idée. Ce sont surtout les critères cliniques qui sont les meilleurs indicateurs du pronostic : l'âge du malade, l'association à d'autres cytopénies autoimmunes (PTAI, érythroblastopénie, neutropénie), la survenue concomitante ou ultérieure d'une autre maladie autoimmune systémique et bien sûr le développement éventuel d'une hémopathie maligne, la corticorésistance, l'échec total ou partiel de la splénectomie sont autant d'éléments faisant porter un pronostic péjoratif. On ne connaît pas jusqu'à présent la signification de la mise en évidence d'une population lymphocytaire T clonale minoritaire dans le sang. Une hémopathie lymphoïde maligne peut apparaître avec le temps dont la fréquence augmente avec l'âge du malade.

- Parmi les éléments du pronostic des AHAI idiopathiques, on peut négliger les risques liés aux traitements eux-mêmes tous fondés actuellement sur l'immunosuppression comme on l'a vu dans le paragraphe précédent.

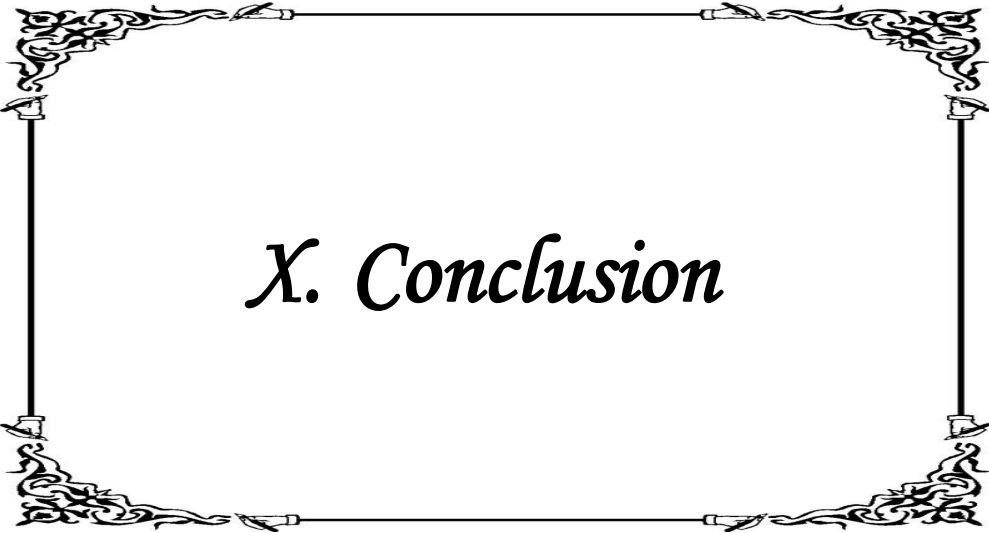
Pronostic de la maladie chronique des agglutinines « froides »

Malgré l'âge des patients atteints de la maladie chronique des agglutinines froides (MCAF) et malgré le caractère éminemment chronique de la maladie, leur survie peut être très longue dépassant le plus souvent 5 ans et allant jusqu'à plus de 10 ans. Les patients sont plutôt handicapés par les phénomènes d'autoagglutination cryopathiques que par l'hémolyse chronique généralement modérés. Ils apprennent à éviter le froid et adaptent leur rythme de vie à leur anémie de base. Quant l'anémie est sévère et qu'elle nécessite la prescription d'un traitement immunosuppresseur, l'évolution de l'anémie peut s'en trouver améliorée, mais le prix est parfois excessif. L'apparition d'une neutropénie,

d'une réticulocytopénie qui explique l'échec du traitement ou la rechute sous traitement obligent à l'arrêter.

La crainte de voir se développer un lymphome malin doit rester présente à l'esprit. Le développement d'un lymphome malin évolutif peut être anticipé parfois par l'étude cytogénique, notamment lors de la découverte d'une trisomie 3. D'autres fois, rien ne fait suspecter une prolifération lymphoïde maligne. Mais l'analyse immunophénotypiques des lymphocytes circulants et de la moelle osseuse peut montrer un pourcentage élevé des lymphocytes B CD20+ CD5+ exprimant une IgM lambda de surface, évoquant le diagnostic de LLC malgré le nombre absolu normal des lymphocytes du sang.

Le pronostic des formes secondaires est plus sombre que dans les formes idiopathiques. Toutes les séries publiées s'accordent sur ce point. [25]



X. Conclusion

L'anémie hémolytique reste un événement rare pouvant s'observer à tout âge.

Malgré la variabilité des signes cliniques, le diagnostic ne souffre pas de difficulté depuis l'avènement du test de Coombs

L'optimum thermique de l'activité de la nature de l'auto-anticorps imprimant leur marque au tableau clinique, faisant distinguer clairement les AHAI « chaudes » des AHAI « froides » cryopathiques rares

Dans plus de la moitié des cas, une autre maladie est associée à l'AHAI. Plus qu'une cause elle en fait le lit par la dysrégulation du système immunitaire qui la caractérise, qu'il s'agisse d'une maladie auto-immune systémique, d'une hémopathie lymphoïde maligne ou d'un déficit immunitaire primitif ou acquis, certaines infections, médicaments peuvent être responsable d'AHAI aiguës réversibles.

Malgré les modalités thérapeutiques bien rodées depuis des années surgissent des formes cliniques d'anémie hémolytiques auto-immune résistantes au traitement malgré la vigueur de l'escalade thérapeutique expliquant les décès encore dus à l'anémie hémolytique auto-immune d'où la nécessité de fournir plus d'efforts pour trouver des méthodes plus rationnelles de rétablissement de l'état normale de tolérance vis-à-vis des antigènes érythrocytaires en supprimant par immunomodulation la production des auto-anticorps pathogènes.



XI. Résumés

Résumé

Titre : le diagnostic biologique des anémies hémolytiques auto-immunes

Auteur : MARZAQ HAJAR

Mots-clés : l'anémie hémolytique auto-immune , le diagnostic biologique, globule rouge ; le test de Coombs

L'Anémie hémolytique auto-immune est un événement rare pouvant s'observer à tout âge de la vie

Les anémies hémolytiques auto-immunes se définissent par la médiation immunologique impliquant la fixation d'autres anticorps à la surface des hématies plus particulièrement au niveau des antigènes de haute fréquence. Cette fixation immune va déclencher une série de réaction aboutissant soit à la lyse directe des globules rouges au niveau de la circulation sanguine (hémolyse intra-vasculaire), soit à leur phagocytose par le système macrophagique (hémolyse extravasculaire ou tissulaire)

Malgré la variabilité des signes cliniques, le diagnostic ne souffre pas de difficulté depuis la disponibilité de l'examen de laboratoire populaire qu'est le test de Coombs.

L'optimum thermique de l'activité de la nature de l'auto-anticorps imprimant leur marque au tableau clinique faisant distinguer clairement les AHAI « chaudes » des AHAI « froides »

Dans plus la moitié des cas, une autre maladie est associée à l'AHAI. Plus qu'une cause elle en fait le lit par la dysrégulation du système immunitaire qui la caractérise, qu'il s'agisse d'une maladie auto-immune systémique, d'une hémopathie lymphoïde maligne ou d'un déficit immunitaire primitif ou acquis, certains infections, médicaments peuvent être responsables d'AHAI aiguës réversibles

L'accent est mis de façon détaillé sur le diagnostic biologique des anémies hémolytiques auto-immune

Les modalités thérapeutiques utilisées depuis des années restent incapables de guérir de façon rationnelle les anémies hémolytiques auto-immune d'où la nécessité de déployer plus d'efforts afin de rétablir l'état normal de tolérance vis-à vis des auto-antigènes érythrocytaires en supprimant par immuno modulation la production des auto-anticorps pathogènes

Summary

Title : laboratory diagnosis of hemolytic anemia autoimmune

Author : MARZAQ HAJAR

Keywords : autoimmune Hemolytic anemia - Diagnosis biologic-Red Blood - Test Coombs

Autoimmune Hemolytic Anemia is a rare event that can be observed at any age of life

Hemolytic anemia Autoimmune are defined by the immunological mediation involving the attachment of other antibodies on the surface of red blood cells in particular at high-frequency antigens. This binding will trigger an immune response resulting series of either the direct lysis of red blood cells in the blood circulation (intravascular hemolysis) or phagocytosis by macrophage system (extravascular hemolysis or tissue)

Despite the variability of clinical signs , diagnosis does not suffer from difficulty since the availability of popular lab exam that is the Coombs test .

The optimum temperature of the Nature Business of autoantibodies printing their mark in clinical AIHA making a clear distinction between "hot" AIHA of "cold"

in most half of the cases , is another disease associated with AIHA . More than a cause she made the bed by dysregulation of the immune system that characterizes it, whether it is a systemic autoimmune disease , lymphoid hematological malignant or primary immunodeficiency or acquired some infections, medications may be responsible reversible acute AIHA

The focus is on how detailed laboratory diagnosis of autoimmune hemolytic anemia

The therapeutic modalities used for years are unable to cure rationally hemolytic anemia autoimmune hence the need for more efforts to restore the normal state vis- à-vis the erythrocyte autoantigens tolerance by suppressing immune modulation of pathogenic autoantibody production

ملخص

العنوان: التشخيص البيولوجي لمرض فقر الدم الانحلالي الذاتي المناعي

الكاتب: هاجر مرزاق

الكلمات الأساسية: فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي، التشخيص البيولوجي، كريات الدم الحمراء، اختبار كومبس.

فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي هو حالة نادرة يمكن ملاحظتها في أي عمر من الحياة يتم تعريف فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي : وساطة المناعية التي تنطوي على مرفق من الأجسام المضادة الأخرى على سطح خلايا الدم الحمراء ولا سيما على مستضدات عالية التردد . هذا الربط من شأنه أن يؤدي إلى استجابة مناعية سلسلة إما تحلل مباشرة من خلايا الدم الحمراء في الدورة الدموية (انحلال الدم داخل الأوعية الدموية) أو البلعمة الناجم عن نظام البلاعم (انحلال الدم خارج الأوعية أو الأنسجة) وعلى الرغم من تنوع العلامات السريرية ، إلا أن التشخيص لا يعاني من صعوبات منذ اكتشاف الإختبار ذو الشعبية والذي يدعى: باختبار كومبس

درجة الحرارة المثلى لطبيعة نشاط الأجسام المضادة طبعت بصماتها في فقر الدم الانحلالي السريري مما جعل التمييز واضح بين فقر الدم الانحلالي "الساخن" من فقر الدم الانحلالي "البارد"

في أكثر من نصف الحالات، يوجد مرض آخر يرتبط بفقر الدم الانحلالي. يشكل أكثر من سبب لفقر الدم الانحلالي بل يعد أرض خصبة لهذا المرض ناتج عن تقلبات في الجهاز المناعي الذي يميز ذلك ، سواء كان مرض المناعة الذاتية النظامية، للمفاوية في الدم، نقص المناعة الخبيث ، الأولي أو المكتسب، بعض الالتهابات، وكذلك بعض الأدوية التي قد تكون مسؤولة عن فقر الدم الانحلالي الحاد الرجعي

وينصب التركيز على التشخيص المختبري بشكل مفصل ل فقر الدم الانحلالي الذاتية

الطرق العلاجية التي استخدمت لسنوات لا تزال غير قادرة على علاج فقر الدم الانحلالي بطريقة جذرية ومن هنا كانت الحاجة لمزيد من الجهود لاستعادة الحالة الطبيعية السلمية بين

كريات الدم الحمراء و المستضدات الكروية الذاتية عن طريق عن كبح الجهاز المناعي من إنتاج مضادات الأجسام.



XII. Bibliographie

- [1]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

- [2]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

- [3]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

- [4]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

- [5]. les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

- [6]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

- [7]. Les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

- [8]. transfusion clinique clinique et biologique (2011) 18, 277, 284.

- [9]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p
- [10]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p
- [11]. les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique
cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.
- [12]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p
- [13]. les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique
cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.
- [14]. les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique
cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.
- [15]. les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique
cordonnée par : Jacques CHIARONI, Franscis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

[16]. Hématologie 2007 ; 13 (5) : 366-9

[17]. Presse Med. 2008 ; 37 : 1309- 1318

[18]. Abrégés d'Hématologie, Edition : MASSON

[19]. Presse Med. 2007 ; 36 : 1959-69

[20]. Abrégés d'Hématologie, Edition : MASSON

[21]. Abrégés d'Hématologie, Edition : MASSON

[22]. Presse Med. 2007 ; 36 1959-69

[23]+ [24] : Abrégés d'Hématologie, Edition : MASSON

[25]. Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir
(Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

Figures 1 et 2 : les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique
cordonnée par : Jacques CHIARONI, Francisc ROUBINETT, Pascal
BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

Figure 3 : Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd
Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

Figure 4 : www.google.fr

Figure 5 : Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

Tableau 1 : les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique coordonnée par : Jacques CHIARONI, Francis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

Tableau 2 : Rochant Henri. Anémies hémolytiques auto immunes. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie, 13-006-D-20, 1999, 19p

Fiches techniques 1, 2,3 : les analyses immuno-hématologique et leurs application clinique coordonnée par : Jacques CHIARONI, Francis ROUBINETT, Pascal BAILLY, Lucienne MANNESSIER, France NOIZAT PIRENNE.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضواً في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- ◀ بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- ◀ وأن أحترم أسانذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- ◀ وأن أمارس مهنتي بوانع من ضميري وشرعي في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
- ◀ وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- ◀ وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- ◀ وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- ◀ وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- ◀ وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- ◀ وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- ◀ بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في.

التشخيص البيولوجي لفقر الدم الانحلالي الذاتي المناعتي

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: هاجر مرزاق

المزودة في 06 نونبر 1989 بالرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: فقر الدم الانحلالي الذاتي المناعتي - التشخيص البيولوجي - كريات الدم الحمراء -
اختبار كومبس.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: أحمد كوزي

أستاذ في طب الأطفال

مشرفة

السيدة: منى نزيه

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيدة: سعيدة طلال

أعضاء

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيدة: سكيينة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة